Tome 68, nº 40 — Décembre 1961

Untersuchungen über freie Aminosäuren während der Adultentwicklung von *Culex pipiens* und *Culex fatigans* und deren Einfluss auf die Eireifung

von

Hans Rudolf GEIGER
aus Ermatingen, Frauenfeld und Zürich

Mit 14 Textabbildungen

INHALT

		Seite
I.	Einleitung und Problemstellung	583
II.	Die ninhydrinpositiven Stoffe während der Adultentwicklung von *Culex pipiens* und *Culex fatigans*	585
III.	Fütterungsversuche	597
IV.	Histologische Untersuchungen der Ovarien	605
V.	Relation Ovarentwicklung - Methioninsulfoxyd	609
VI.	Zusammenfassung	619
VII.	Literatur	622

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG[1]

Bei der überwiegenden Zahl von Stechmücken sind die Weibchen zur Eiablage unbedingt auf Blut angewiesen (Anautogenie). Es sind aber verschiedene Formen bekannt, bei denen die Weibchen das erste Eipaket ohne Blutnahrung bilden können (Autogenie).

[1] Herzlichen Dank spreche ich meinen verehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. P. S. Chen, für die Ueberlassung des Themas und für die verständnisvolle Leitung und Förderung dieser Arbeit, und Herrn Prof. Dr. E. Hadorn, für das stete Interesse meinen Untersuchungen gegenüber, aus. Herrn Prof. Dr. A. Kälin danke ich für die Ratschläge bei der statistischen Auswertung der Resultate.

Das Problem dieser anautogenen und autogenen Eibildung wurde durch viele Forscher von den verschiedensten Seiten angegangen.

Während Roubaud (1929) von Rassen spricht, Marshall and Staley (1937) die autogene Population als eigene Art betrachten, so bezeichnet sie Laven (in Mattingly et al., 1951) als Mutante der autogenen. Populationen, zur morphologisch definierten Spezies *Culex pipiens* gehörend, lassen sich nicht unbegrenzt miteinander kreuzen (Laven, 1957). Die Systematik des *Culex pipiens*-Komplexes harrt also noch der Abklärung, weshalb die Verwendung des unbestimmten Ausdruckes « Form » (Mattingly, 1952) angebracht scheint.

Der Ernährung wurde eine wichtige Rolle zugeordnet, da die Eier der autogenen Form offensichtlich aus larvalen Reservestoffen aufgebaut werden (Boissezon, 1933; Roubaud, 1933). Die autogenen Larven bilden unter gleichen Zuchtbedingungen einen grössern Fettkörper als die anautogenen aus (Roubaud and Toumanoff, 1930; Roubaud, 1933; Möllring, 1956). Die gleiche Beobachtung machten Möllring (1956) und Twohy and Rozeboom (1957) bei den frischgeschlüpften Weibchen. Wenn Clements (1956) auf der einen Seite herausfand, dass die anautogene larvale Reserve durchaus zur Bildung einiger Eier ausreichen würde, anderseits aber die Weibchen einer autogenen Hungerlarven-Zucht autogen bleiben (Buck, 1935; Möllring, 1956), so kann man daraus den Schluss ziehen, dass die Ernährung auf die *Auslösung* der Eientwicklung keinen Einfluss hat und höchstens die Eizahl der autogenen Form beeinflussen kann (Gaschen, 1932; Hecht, 1933).

Wigglesworth (1936) hat an *Rhodnius* die Abhängigkeit der Ovarentwicklung vom Corpus allatum-Hormon festgestellt. Entsprechende Untersuchungen an Mücken begannen Bodenstein (1945), Detinova (1945) und Mednikowa (1952). Die Schnürungsexperimente von Clements (1956) an *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* und *Anopheles* deuteten auf Beeinflussung der Ovarien durch ein Hormon hin, was er aber bei Transplantationen von Gehirn, Corpora allata und Corpora cardiaca nicht bestätigt fand. Bluttransfusionen an *Aedes aegypti* erbrachten den Nachweis, dass die Entwicklung des Ovars unter der Kontrolle eines im Kopf gebildeten Hormons steht (Gillett, 1958).

Auf Grund seiner Ovartransplantationsergebnisse an *Culex pipiens* und *Culex fatigans* schloss Larsen (1958) auf ein gonado-

tropes Hormon der Corpora allata, was LARSEN and BODENSTEIN (1959) durch entsprechende Transplantationen dieser Organe später beweisen konnten. Offenbar wird in autogenen Weibchen durch die Corpora allata ein gonadotropes Hormon ausgeschieden, das bei der anautogenen Form ohne Blutnahrung nicht gebildet wird.

Für Wachstum und Fortpflanzung ist der Proteinstoffwechsel von besonderer Wichtigkeit. So baut sich beispielsweise der Dotter zum grössten Teil aus Eiweissreserven auf. YOELY and MER (1938), GREENBERG (1951) und HOSOI (1954) machen einen unbekannten chemischen Faktor für die anautogene Eiproduktion verantwortlich. Es besteht die Möglichkeit, dass eine chemische Substanz indirekt, d. h. durch Anregung des Hormonsystems, oder direkt, d. h. durch Beeinflussung des Ovars selbst, die Ovarentwicklung auslösen, bzw. hemmen könnte. So hat CHEN (1958 *a* und *b*, 1959) die Veränderungen im Aminosäurestoffwechsel bei Larven, Puppen und Adulttieren von *Culex pipiens* festgehalten. Er stellte dabei fest, dass Methioninsulfoxyd in adulten Weibchen, β-Alanin in adulten Männchen angereichert sind. Dieselbe Beobachtung machten KAPLAN et al. (1958) mit Methionin bei *Drosophila melanogaster*.

Die vorliegende Arbeit stellt sich folgende Ziele:

1. Das Stoffinventar an freien Aminosäuren, während der Adultentwicklung von *Culex fatigans*, zu bestimmen und mit demjenigen von *Culex pipiens* zu vergleichen;
2. Einen Beitrag zur Abklärung der Bedeutung von Methioninsulfoxyd in der Fortpflanzung bei beiden *Culex*-Formen zu leisten.

II. DIE NINHYDRINPOSITIVEN STOFFE WÄHREND DER ADULTENTWICKLUNG VON *CULEX PIPIENS* UND *CULEX FATIGANS*.

1. MATERIAL UND METHODE.

Die beiden *Culex* Formen, ursprünglich am Max-Planckinstitut für Biologie in Tübingen gezüchtet, werden über Generationen an unserem Institut gehalten.

Die täglich aus den Kulturschalen gesammelten Puppen wurden in mit Gaze bedeckte, 100 ml Wasser enthaltende 300 ml Gläser gegeben und zur Zeit des Schlüpfens alle vier Stunden beobachtet. Sämtliche, innerhalb dieser Zeitspanne geschlüpften Tiere, galten als gleichaltrig und standen, während 10 Tagen bei 25° in getrennten Gläsern gehalten, jederzeit für Extrakte zur Verfügung. Die Mücken erhielten bis zur Verarbeitung keinerlei Nahrung.

Das Pipettieren der Puppen aus den Zuchtgläsern ist eine langwierige Arbeit. Bei der leisesten Berührung der Wasseroberfläche tauchen die Puppen unter und schwirren unruhig herum, was den Fang natürlich sehr erschwert. Eine interessante Beobachtung liess eine neue Fangtechnik erproben, die sich bestens bewährte. Puppen in frisches, kaltes Wasser gegeben, bleiben bewegungslos an der Oberfläche. Die Larven hingegen suchen beim Wasserwechsel den Boden der Schalen auf. So lassen sich die Puppen während kurzer Zeit bequem mit einem Sieb einsammeln.

In Vorversuchen nach der eindimensionalen Methode erwiesen sich die Extrakte von 12 Tieren als optimale Menge für zweidimensionale Chromatogramme, um auch die schwächern Flecken deutlich sichtbar zu machen. Je 12 gleichaltrige, gleichgeschlechtige Tiere wurden in einem kleinen Glastubus mit einem Glasstab fein zerrieben, in 0,2 ccm 80%-igem Methylalkohol extrahiert und anschliessend zentrifugiert. Der Extrakt wurde auf Filterpapier Whatman No. 1 (24×46 cm) aufgetragen, aufsteigend in 70% n-Propanol und darauf absteigend in wassergesättigtem Phenol chromatographiert. Warmluft (ca. 45°) während vier Stunden entfernt das Phenol vollständig aus dem Papier.

Die qualitative Bestimmung der Aminosäuren geschah nach Hadorn und Stumm-Zollinger (1953), Chen und Hadorn (1954) während die quantitative Auswertung nach der leicht abgeänderten Methode von Fischer und Dörfel (1953) erfolgte: Photometrierung der Kupfersalze von Ninhydrinfärbungen in Lösung. Zur Erzeugung der Farbreaktion wurde das Papier dreimal beidseitig mit 0,5%-iger Ninhydrinlösung besprüht und während 20 Minuten bei 80° C entwickelt. Die Behandlung der Flecken mit einer Mischung aus 2 ccm gesättigter, wässriger Kupfernitratlösung, 0,2 ccm 10%-iger Salpetersäure und 100 ccm 96%-igem Aethanol, führt zur Bildung des Kupfersalzes. Der Kupferkomplex ist stabil, so dass die Chromatogramme längere Zeit haltbar sind. Die Flecken

wurden nun planimetriert, ausgeschnitten und in je 5 ccm Methanol eluiert. Darauf liessen sich, nach maximal zwei Stunden, die Extinktionswerte des Eluates im Beckman-Photospektrometer (Modell DU) bei einer Wellenlänge von 510 mμ bestimmen. Die Werte waren noch um die Papierwerte zu korrigieren (s. BENZ 1957, FAULHABER 1959).

Die genaue Untersuchungsanordnung für jede Versuchsserie wird im folgenden noch eingehend beschrieben.

2. ERGEBNISSE.

Im Laufe der Adultentwicklung konnten bei *Culex pipiens* und bei *Culex fatigans*, sowohl bei den Weibchen als auch bei den Männchen, folgende freien Aminosäuren und Peptide identifiziert werden: α-Alanin, β-Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Cystin, Glu-

TABELLE 1.

Durchschnittliches Frischgewicht bei Weibchen und Männchen von Culex pipiens *und* Culex fatigans, *vom ersten bis zum fünften Tag nach dem Schlüpfen, in mg pro Tier bei 22°* C.

(n = Anzahl der Bestimmungen, M = Mittelwerte, S = Streuung.)

	n	*Cules pipiens*		n	*Culex fatigans*	
		♀ M ± S	♂ M ± S		♀ M ± S	♂ M ± S
1. Tag . .	20	4,383 ± 0,0725	2,274 ± 0,0573	13	2,479 ± 0,0735	1,606 ± 0,0506
2. Tag . .	20	4,652 ± 0,0685	2,058 ± 0,0628	13	2,272 ± 0,0702	1,590 ± 0,0610
3. Tag . .	19	4,248 ± 0,0753	1,914 ± 0,0592	12	2,240 ± 0,0810	1,391 ± 0,0733
4. Tag . .	19	4,266 ± 0,0664	1,812 ± 0,0607	11	2,005 ± 0,0695	1,244 ± 0,0621
5. Tag . .	19	3,894 ± 0,0683	1,667 ± 0,0633	10	1,892 ± 0,0633	1,194 ± 0,0522

tamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Leucin/Isoleucin, Lysin, Methioninsulfoxyd, Prolin, Serin, Taurin, Threonin, Tyrosin, Valin-Methionin, Peptid 1, 2, 3. Es bestehen keine qualitativen Unterschiede an ninhydrinpositiven Substanzen zwischen den beiden Formen. Dagegen zeigen die quantitativen Ergebnisse, dass die Gesamtmenge an ninhydrinpositiven Stoffen grösser ist, einerseits bei Weibchen gegenüber Männchen und anderseits bei *Culex pipiens*

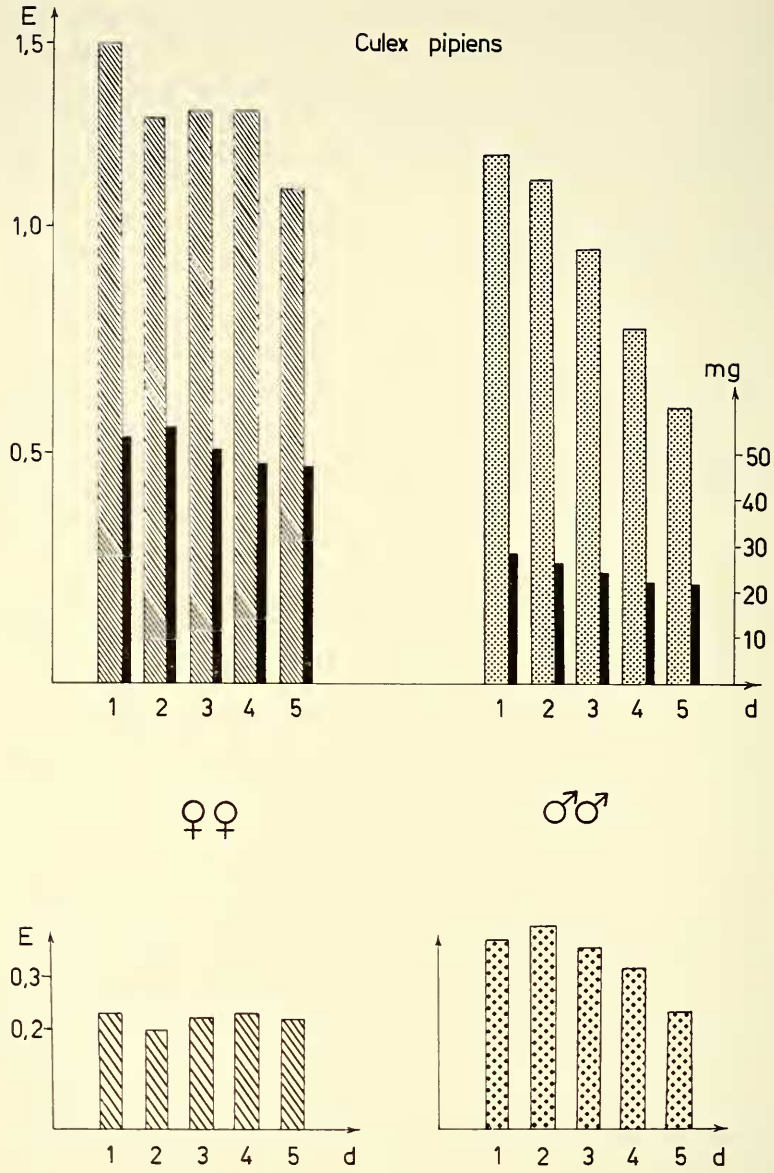

Abb. 1 *a*.

Oben: Gesamtmenge der ninhydrinpositiven Substanzen (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers) und Frischgewicht (in mg) pro 12 Tiere während der Adultentwicklung von *Culex pipiens*.

Unten: Verhältnis der Extinktion zum Gewicht (E/mg).

Es handelt sich um Durchschnittswerte von 12-20 Messungen, bei einer durchschnittlichen Temperatur von 22° C gemacht. (E = Extinktion).

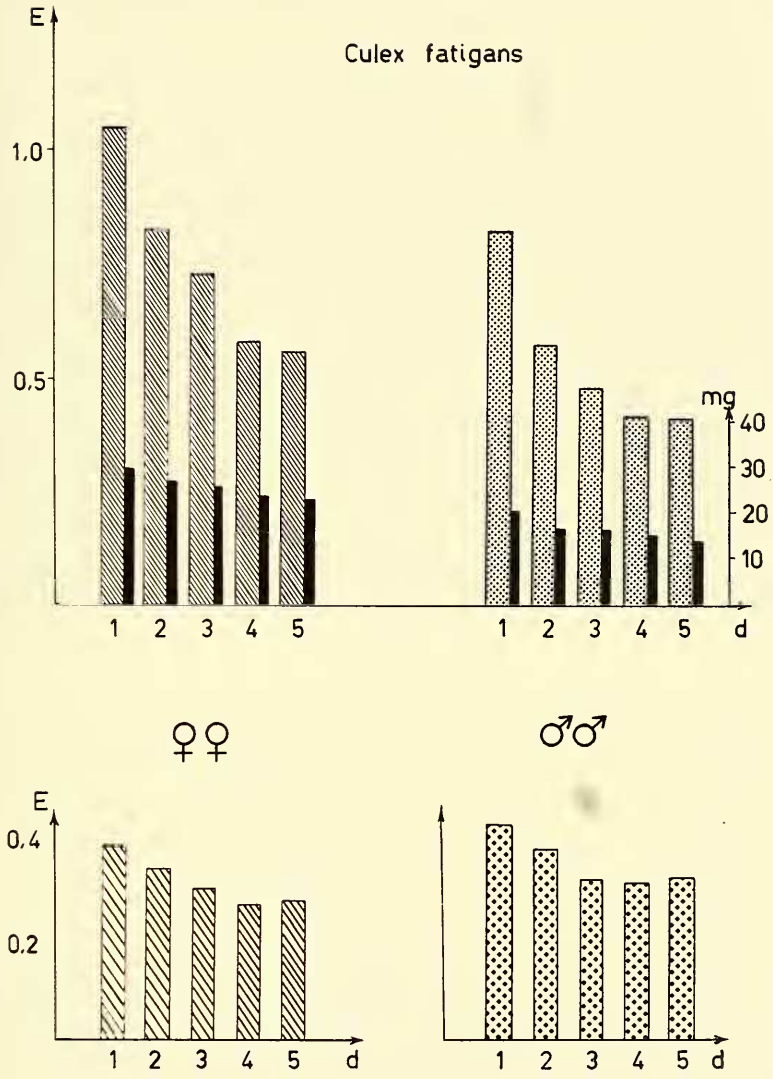

Abb. 1 *b*.

Oben: Gesamtmenge der ninhydrinpositiven Substanzen (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers) und Frischgewicht (in mg) pro 12 Tiere während der Adultentwicklung von *Culex fatigans*.

Unten: Verhältnis der Extinktion zum Gewicht (E/mg).
Es handelt sich um Durchschnittswerte von 12-20 Messungen, bei einer durchschnittlichen Temperatur von 22° C gemacht. (E = Extinktion).

Tabe

Die freien Aminosäuren und Peptide (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotosp

(n = Anzahl d

Culex pipiens	1. Tag			2. Tag			
	n	♀	♂	n	♀	♂	n
α-Alanin	7	0,287 ± 0,011	0,233 ± 0,013	7	0,314 ± 0,012	0,028 ± 0,011	8
β-Alanin	7	0,041 ± 0,010	0,034 ± 0,012	7	0,033 ± 0,009	0,112 ± 0,020	7
Arginin	8	0,084 ± 0,018	0,073 ± 0,011	7	0,070 ± 0,016	0,073 ± 0,012	7
Asparaginsäure	7	0,021 ± 0,006	0,017 ± 0,005	8	0,018 ± 0,007	0,012 ± 0,003	7
Cystin	8	0,019 ± 0,006	0,016 ± 0,006	7	0,010 ± 0,004	0,005 ± 0,007	7
Glutamin	8	0,101 ± 0,013	0,113 ± 0,012	7	0,065 ± 0,014	0,096 ± 0,011	8
Glutaminsäure	8	0,145 ± 0,006	0,104 ± 0,010	7	0,125 ± 0,006	0,067 ± 0,004	7
Glycin	7	0,020 ± 0,007	0,022 ± 0,004	8	0,021 ± 0,008	0,014 ± 0,004	8
Histidin	8	0,103 ± 0,010	0,131 ± 0,011	8	0,075 ± 0,011	0,134 ± 0,010	8
Leucin/Isoleucin	7	0,060 ± 0,008	0,042 ± 0,004	7	0,023 ± 0,009	0,029 ± 0,004	7
Lysin	7	0,027 ± 0,005	0,022 ± 0,004	8	0,015 ± 0,005	0,013 ± 0,006	8
Methioninsulfoxyd	7	0,219 ± 0,010	0,096 ± 0,009	7	0,266 ± 0,012	0,097 ± 0,008	8
Prolin	8	0,032 ± 0,012	0,024 ± 0,013	7	0,028 ± 0,012	0,017 ± 0,010	8
Serin	8	0,050 ± 0,005	0,063 ± 0,004	8	0,030 ± 0,005	0,067 ± 0,004	6
Taurin	8	0,015 ± 0,010	0,016 ± 0,011	8	0,010 ± 0,005	0,015 ± 0,005	8
Threonin	7	0,024 ± 0,003	0,030 ± 0,004	6	0,021 ± 0,004	0,019 ± 0,006	7
Tyrosin	8	0,055 ± 0,010	0,028 ± 0,011	7	0,049 ± 0,010	— —	7
Valin/Methionin	7	0,103 ± 0,012	0,056 ± 0,012	7	0,046 ± 0,009	0,050 ± 0,010	8
Peptid 1	7	— —	0,020 ± 0,011	8	0,014 ± 0,010	0,004 ± 0,005	8

Tabi

Die freien Aminosäuren und Peptide (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotosp

(n = Anzahl d

Culex fatigans	1. Tag			2. Tag			
	n	♀	♂	n	♀	♂	n
α-Alanin	6	0,304 ± 0,010	0,278 ± 0,011	7	0,062 ± 0,009	0,170 ± 0,010	7
β-Alanin	7	0,036 ± 0,007	0,040 ± 0,006	8	0,028 ± 0,007	0,073 ± 0,007	8
Arginin	7	0,058 ± 0,010	0,033 ± 0,009	8	0,037 ± 0,012	0,026 ± 0,008	6
Asparaginsäure	8	0,024 ± 0,005	0,017 ± 0,003	8	0,019 ± 0,008	0,012 ± 0,005	7
Cystin	7	0,018 ± 0,003	0,004 ± 0,003	7	0,005 ± 0,003	0,004 ± 0,003	7
Glutamin	8	0,044 ± 0,010	0,049 ± 0,012	8	0,039 ± 0,012	0,032 ± 0,012	8
Glutaminsäure	8	0,123 ± 0,008	0,095 ± 0,005	7	0,099 ± 0,008	0,074 ± 0,004	8
Glycin	6	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,008	7	0,014 ± 0,005	0,016 ± 0,007	8
Histidin	7	0,034 ± 0,005	0,032 ± 0,005	7	0,015 ± 0,006	0,002 ± 0,005	7
Leucin/Isoleucin	7	0,033 ± 0,010	0,034 ± 0,011	8	— —	— —	7
Lysin	8	0,013 ± 0,009	0,007 ± 0,005	7	— —	— —	7
Methioninsulfoxyd	8	0,221 ± 0,008	0,127 ± 0,007	7	0,232 ± 0,008	0,075 ± 0,008	8
Prolin	8	0,021 ± 0,010	0,011 ± 0,011	8	0,012 ± 0,009	0,010 ± 0,010	6
Serin	7	0,032 ± 0,012	0,029 ± 0,013	8	0,027 ± 0,011	0,026 ± 0,013	7
Taurin	8	0,017 ± 0,005	0,012 ± 0,004	7	0,007 ± 0,005	0,009 ± 0,003	7
Threonin	7	0,018 ± 0,006	0,017 ± 0,006	7	0,016 ± 0,005	0,010 ± 0,005	7
Tyrosin	7	0,018 ± 0,012	0,008 ± 0,010	7	— —	— —	8
Valin/Methionin	8	0,013 ± 0,009	— —	8	— —	— —	8
Peptid 1	8	0,011 ± 0,008	0,017 ± 0,007	7	0,005 ± 0,005	0,017 ± 0,004	8

2 *a*.

ometers) während der Adultentwicklung von Culex pipiens *pro 12 Tiere bei 22°* C.
estimmungen.)

3. Tag		4. Tag			5. Tag		
♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂
± 0,014	0,278 ± 0,010	8	0,406 ± 0,014	0,250 ± 0,010	7	0,360 ± 0,015	0,108 ± 0,010
± 0,010	0,132 ± 0,009	7	0,042 ± 0,008	0,134 ± 0,010	7	0,027 ± 0,011	0,125 ± 0,010
± 0,015	0,073 ± 0,011	7	0,075 ± 0,015	0,046 ± 0,010	8	0,058 ± 0,016	0,019 ± 0,010
± 0,008	0,012 ± 0,004	7	0,016 ± 0,008	0,008 ± 0,005	7	0,008 ± 0,007	0,011 ± 0,004
± 0,006	0,008 ± 0,005	7	0,004 ± 0,004	0,007 ± 0,007	8	0,008 ± 0,008	0,007 ± 0,004
± 0,012	0,055 ± 0,011	8	0,013 ± 0,012	0,025 ± 0,010	8	0,038 ± 0,013	0,027 ± 0,011
± 0,007	0,046 ± 0,005	7	0,089 ± 0,007	0,039 ± 0,005	7	0,082 ± 0,008	0,066 ± 0,005
± 0,008	0,014 ± 0,005	8	0,019 ± 0,009	0,006 ± 0,005	7	0,010 ± 0,008	0,011 ± 0,004
± 0,012	0,138 ± 0,010	8	0,032 ± 0,011	0,101 ± 0,010	8	0,013 ± 0,010	0,056 ± 0,011
± 0,010	— —	7	0,019 ± 0,010	— —	8	0,005 ± 0,009	— —
± 0,008	0,006 ± 0,005	7	0,016 ± 0,008	0,002 ± 0,002	7	0,002 ± 0,002	— —
± 0,010	0,097 ± 0,009	8	0,369 ± 0,012	0,088 ± 0,008	8	0,386 ± 0,010	0,078 ± 0,008
± 0,011	0,019 ± 0,009	8	0,013 ± 0,010	0,005 ± 0,004	7	0,013 ± 0,012	0,013 ± 0,008
± 0,006	0,027 ± 0,004	7	0,042 ± 9,005	0,013 ± 0,004	7	0,017 ± 0,005	0,007 ± 0,004
± 0,006	0,014 ± 0,005	8	0,015 ± 0,005	0,012 ± 0,005	7	0,015 ± 0,006	0,011 ± 0,004
± 0,010	0,014 ± 0,004	7	0,010 ± 0,005	0,006 ± 0,004	7	0,007 ± 0,006	0,003 ± 0,003
± 0,010	0,013 ± 0,011	7	0,018 ± 0,009	0,006 ± 0,004	8	0,017 ± 0,009	0,006 ± 0,005
± 0,012	0,016 ± 0,013	8	0,026 ± 0,010	0,002 ± 0,002	7	0,002 ± 0,002	— —
± 0,007	0,003 ± 0,003	8	0,008 ± 0,005	0,006 ± 0,002	7	0,013 ± 0,004	0,004 ± 0,002

2 *b*.

ometers) während der Adultentwicklung von Culex fatigans *pro 12 Tiere bei* 22° C.
estimmungen.)

3. Tag		4. Tag			5. Tag		
♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂
± 0,012	0,125 ± 0,009	8	0,154 ± 0,009	0,128 ± 0,010	7	0,138 ± 0,010	0,096 ± 0,009
± 0,074	0,074 ± 0,006	7	0,019 ± 0,007	0,108 ± 0,006	7	0,021 ± 0,006	0,110 ± 0,006
± 0,008	0,025 ± 0,009	8	0,025 ± 0,012	0,024 ± 0,010	7	0,022 ± 0,009	0,026 ± 0,011
± 0,005	0,012 ± 0,004	8	0,011 ± 0,008	0,008 ± 0,007	8	0,012 ± 0,008	0,011 ± 0,008
± 0,005	0,001 ± 0,001	8	0,006 ± 0,005	— —	8	0,003 ± 0,002	— —
± 0,010	0,018 ± 0,012	7	0,028 ± 0,009	0,021 ± 0,010	7	0,025 ± 0,010	0,020 ± 0,011
± 0,009	0,065 ± 0,004	7	0,053 ± 0,008	0,057 ± 0,005	8	0,050 ± 0,008	0,058 ± 0,005
± 0,010	0,006 ± 0,006	8	0,008 ± 0,003	— —	7	0,006 ± 0,006	0,008 ± 0,008
± 0,008	0,020 ± 0,007	7	0,002 ± 0,002	0,009 ± 0,005	7	0,008 ± 0,004	0,012 ± 0,006
—	— —	6	— —	— —	8	— —	— —
—	— —	8	— —	— —	8	— —	— —
± 0,010	0,073 ± 0,009	8	0,230 ± 0,010	0,046 ± 0,009	8	0,225 ± 0,008	0,042 ± 0,008
± 0,011	0,012 ± 0,010	7	0,004 ± 0,003	— —	7	0,005 ± 0,008	0,013 ± 0,010
± 0,009	0,018 ± 0,011	8	0,019 ± 0,012	0,001 ± 0,001	7	0,017 ± 0,012	0,005 ± 0,003
± 0,003	0,011 ± 0,006	7	0,002 ± 0,002	0,009 ± 0,004	8	0,002 ± 0,002	0,007 ± 0,006
± 0,006	0,012 ± 0,006	7	0,015 ± 0,004	0,001 ± 0,001	7	0,016 ± 0,004	0,002 ± 0,002
± 0,005	— —	8	— —	0,008 ± 0,007	8	0,004 ± 9,004	0,003 ± 0,002
—	— —	8	— —	— —	7	— —	— —
± 0,008	0,012 ± 0,010	8	0,005 ± 0,005	— —	7	0,007 ± 0,006	0,010 ± 0,005

Tabelle 2 *a*.

Die freien Aminosäuren und Peptide (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers) während der Adultentwicklung von Culex pipiens *pro 12 Tiere bei 22°* C.

(n = Anzahl der Bestimmungen.)

Culex pipiens	1. Tag			2. Tag			3. Tag			4. Tag			5. Tag		
	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂
α-Alanin	7	0,287 ± 0,011	0,233 ± 0,013	7	0,314 ± 0,012	0,028 ± 0,011	8	0,346 ± 0,014	0,278 ± 0,010	8	0,406 ± 0,014	0,250 ± 0,010	7	0,360 ± 0,015	0,108 ± 0,010
β-Alanin	7	0,041 ± 0,010	0,034 ± 0,012	7	0,033 ± 0,009	0,112 ± 0,020	7	0,034 ± 0,010	0,132 ± 0,009	7	0,042 ± 0,008	0,134 ± 0,010	7	0,027 ± 0,011	0,125 ± 0,010
Arginin	8	0,084 ± 0,018	0,073 ± 0,011	7	0,070 ± 0,016	0,073 ± 0,012	7	0,070 ± 0,015	0,073 ± 0,011	7	0,075 ± 0,015	0,046 ± 0,010	8	0,058 ± 0,016	0,019 ± 0,010
Asparaginsäure	7	0,021 ± 0,006	0,017 ± 0,005	8	0,018 ± 0,007	0,012 ± 0,003	7	0,015 ± 0,008	0,012 ± 0,004	7	0,016 ± 0,008	0,008 ± 0,005	7	0,008 ± 0,007	0,011 ± 0,004
Cystin	8	0,019 ± 0,006	0,016 ± 0,006	7	0,010 ± 0,004	0,005 ± 0,007	7	0,011 ± 0,006	0,008 ± 0,005	7	0,004 ± 0,004	0,007 ± 0,007	8	0,008 ± 0,008	0,007 ± 0,004
Glutamin	8	0,101 ± 0,013	0,113 ± 0,012	7	0,065 ± 0,014	0,096 ± 0,011	8	0,049 ± 0,012	0,055 ± 0,011	8	0,013 ± 0,012	0,025 ± 0,010	8	0,038 ± 0,013	0,027 ± 0,011
Glutaminsäure	8	0,145 ± 0,006	0,104 ± 0,010	7	0,125 ± 0,006	0,067 ± 0,004	7	0,125 ± 0,007	0,046 ± 0,005	7	0,089 ± 0,007	0,039 ± 0,005	7	0,082 ± 0,008	0,066 ± 0,005
Glycin	7	0,020 ± 0,007	0,022 ± 0,004	8	0,021 ± 0,008	0,014 ± 0,004	8	0,023 ± 0,008	0,014 ± 0,005	8	0,019 ± 0,009	0,006 ± 0,005	7	0,010 ± 0,008	0,011 ± 0,004
Histidin	8	0,103 ± 0,010	0,131 ± 0,011	8	0,075 ± 0,011	0,134 ± 0,010	8	0,051 ± 0,012	0,138 ± 0,010	8	0,032 ± 0,011	0,101 ± 0,010	8	0,013 ± 0,010	0,056 ± 0,011
Leucin/Isoleucin	7	0,060 ± 0,008	0,042 ± 0,004	7	0,023 ± 0,009	0,029 ± 0,004	7	0,015 ± 0,010	— —	7	0,019 ± 0,010	— —	8	0,005 ± 0,009	— —
Lysin	7	0,027 ± 0,005	0,022 ± 0,004	8	0,015 ± 0,005	0,013 ± 0,006	8	0,015 ± 0,008	0,006 ± 0,005	7	0,016 ± 0,008	0,002 ± 0,002	7	0,002 ± 0,002	— —
Methioninsulfoxyd	7	0,219 ± 0,010	0,096 ± 0,009	7	0,266 ± 0,012	0,097 ± 0,008	8	0,349 ± 0,010	0,097 ± 0,009	8	0,369 ± 0,012	0,088 ± 0,008	8	0,386 ± 0,010	0,078 ± 0,008
Prolin	8	0,032 ± 0,012	0,024 ± 0,013	7	0,028 ± 0,012	0,017 ± 0,010	8	0,016 ± 0,011	0,019 ± 0,009	8	0,013 ± 0,010	0,005 ± 0,004	7	0,013 ± 0,012	0,013 ± 0,008
Serin	8	0,050 ± 0,005	0,063 ± 0,004	8	0,030 ± 0,005	0,067 ± 0,004	6	0,030 ± 0,006	0,027 ± 0,004	7	0,042 ± 0,005	0,013 ± 0,004	7	0,017 ± 0,005	0,007 ± 0,004
Taurin	8	0,015 ± 0,010	0,016 ± 0,011	8	0,010 ± 0,005	0,015 ± 0,005	8	0,012 ± 0,006	0,014 ± 0,005	8	0,015 ± 0,005	0,012 ± 0,005	7	0,015 ± 0,006	0,011 ± 0,004
Threonin	7	0,024 ± 0,003	0,030 ± 0,004	6	0,021 ± 0,004	0,019 ± 0,006	7	0,022 ± 0,010	0,014 ± 0,004	7	0,010 ± 0,005	0,006 ± 0,004	7	0,007 ± 0,006	0,003 ± 0,003
Tyrosin	8	0,055 ± 0,010	0,028 ± 0,011	7	0,049 ± 0,010	— —	7	0,036 ± 0,010	0,013 ± 0,011	7	0,018 ± 0,009	0,006 ± 0,004	8	0,017 ± 0,009	0,006 ± 0,005
Valin/Methionin	7	0,103 ± 0,012	0,056 ± 0,012	7	0,046 ± 0,009	0,050 ± 0,010	8	0,028 ± 0,012	0,016 ± 0,013	8	0,026 ± 0,010	0,002 ± 0,002	7	0,002 ± 0,002	— —
Peptid 1	7	— —	0,020 ± 0,011	8	0,014 ± 0,010	0,004 ± 0,005	8	0,009 ± 0,007	0,003 ± 0,003	8	0,008 ± 0,005	0,006 ± 0,002	7	0,013 ± 0,004	0,004 ± 0,002

Tabelle 2 *b*.

Die freien Aminosäuren und Peptide (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers) während der Adultentwicklung von Culex fatigans *pro 12 Tiere bei 22°* C.

(n = Anzahl der Bestimmungen.)

Culex fatigans	1. Tag			2. Tag			3. Tag			4. Tag			5. Tag		
	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂
α-Alanin	6	0,304 ± 0,010	0,278 ± 0,011	7	0,062 ± 0,009	0,170 ± 0,010	7	0,164 ± 0,012	0,125 ± 0,009	8	0,154 ± 0,009	0,128 ± 0,010	7	0,138 ± 0,010	0,096 ± 0,009
β-Alanin	7	0,036 ± 0,007	0,040 ± 0,006	8	0,028 ± 0,007	0,073 ± 0,007	8	0,021 ± 0,074	0,074 ± 0,006	7	0,019 ± 0,007	0,108 ± 0,006	7	0,021 ± 0,006	0,110 ± 0,006
Arginin	7	0,058 ± 0,010	0,033 ± 0,009	8	0,037 ± 0,012	0,026 ± 0,008	6	0,034 ± 0,008	0,025 ± 0,009	8	0,025 ± 0,012	0,024 ± 0,010	7	0,022 ± 0,009	0,026 ± 0,011
Asparaginsäure	8	0,024 ± 0,005	0,017 ± 0,003	8	0,019 ± 0,008	0,012 ± 0,005	7	0,019 ± 0,005	0,012 ± 0,004	8	0,011 ± 0,008	0,008 ± 0,007	8	0,012 ± 0,008	0,011 ± 0,008
Cystin	7	0,018 ± 0,003	0,004 ± 0,003	7	0,005 ± 0,003	0,004 ± 0,003	7	0,008 ± 0,005	0,001 ± 0,001	8	0,006 ± 0,005	— —	8	0,003 ± 0,002	— —
Glutamin	8	0,044 ± 0,010	0,049 ± 0,012	8	0,039 ± 0,012	0,032 ± 0,012	8	0,055 ± 0,010	0,018 ± 0,012	7	0,028 ± 0,009	0,021 ± 0,010	7	0,025 ± 0,010	0,020 ± 0,011
Glutaminsäure	8	0,123 ± 0,008	0,095 ± 0,005	7	0,099 ± 0,008	0,074 ± 0,004	8	0,069 ± 0,009	0,065 ± 0,004	7	0,053 ± 0,008	0,057 ± 0,005	8	0,050 ± 0,008	0,058 ± 0,005
Glycin	6	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,008	7	0,014 ± 0,005	0,016 ± 0,007	8	0,018 ± 0,010	0,006 ± 0,006	8	0,008 ± 0,003	— —	7	0,006 ± 0,006	0,008 ± 0,008
Histidin	7	0,034 ± 0,005	0,032 ± 0,005	7	0,015 ± 0,006	0,002 ± 0,005	7	0,012 ± 0,008	0,020 ± 0,007	7	0,002 ± 0,002	0,009 ± 0,005	7	0,008 ± 0,004	0,012 ± 0,006
Leucin/Isoleucin	7	0,033 ± 0,010	0,034 ± 0,011	8	— —	— —	7	— —	— —	6	— —	— —	8	— —	— —
Lysin	8	0,013 ± 0,009	0,007 ± 0,005	7	— —	— —	7	— —	— —	8	— —	— —	8	— —	— —
Methioninsulfoxyd	8	0,221 ± 0,008	0,127 ± 0,007	7	0,232 ± 0,008	0,075 ± 0,008	8	0,233 ± 0,010	0,073 ± 0,009	8	0,230 ± 0,010	0,046 ± 0,009	8	0,225 ± 0,008	0,042 ± 0,008
Prolin	8	0,021 ± 0,010	0,011 ± 0,011	8	0,012 ± 0,009	0,010 ± 0,010	6	0,019 ± 0,011	0,012 ± 0,010	7	0,004 ± 0,003	— —	7	0,005 ± 0,008	0,013 ± 0,010
Serin	7	0,032 ± 0,012	0,029 ± 0,013	8	0,027 ± 0,011	0,026 ± 0,013	7	0,029 ± 0,009	0,018 ± 0,011	8	0,019 ± 0,012	0,001 ± 0,001	7	0,017 ± 0,012	0,005 ± 0,003
Taurin	8	0,017 ± 0,005	0,012 ± 0,004	7	0,007 ± 0,005	0,009 ± 0,003	7	0,007 ± 0,003	0,011 ± 0,006	7	0,002 ± 0,002	0,009 ± 0,004	8	0,002 ± 0,002	0,007 ± 0,006
Threonin	7	0,018 ± 0,006	0,017 ± 0,006	7	0,016 ± 0,005	0,010 ± 0,005	7	0,019 ± 0,006	0,012 ± 0,006	7	0,015 ± 0,004	0,001 ± 0,001	7	0,016 ± 0,004	0,002 ± 0,002
Tyrosin	7	0,018 ± 0,012	0,008 ± 0,010	7	— —	— —	8	0,006 ± 0,005	— —	8	— —	0,008 ± 0,007	8	0,004 ± 9,004	0,003 ± 0,002
Valin/Methionin	8	0,013 ± 0,009	— —	8	— —	— —	8	— —	— —	8	— —	— —	7	— —	— —
Peptid 1	8	0,011 ± 0,008	0,017 ± 0,007	7	0,005 ± 0,005	0,017 ± 0,004	8	0,018 ± 0,008	0,012 ± 0,010	8	0,005 ± 0,005	— —	7	0,007 ± 0,006	0,010 ± 0,005

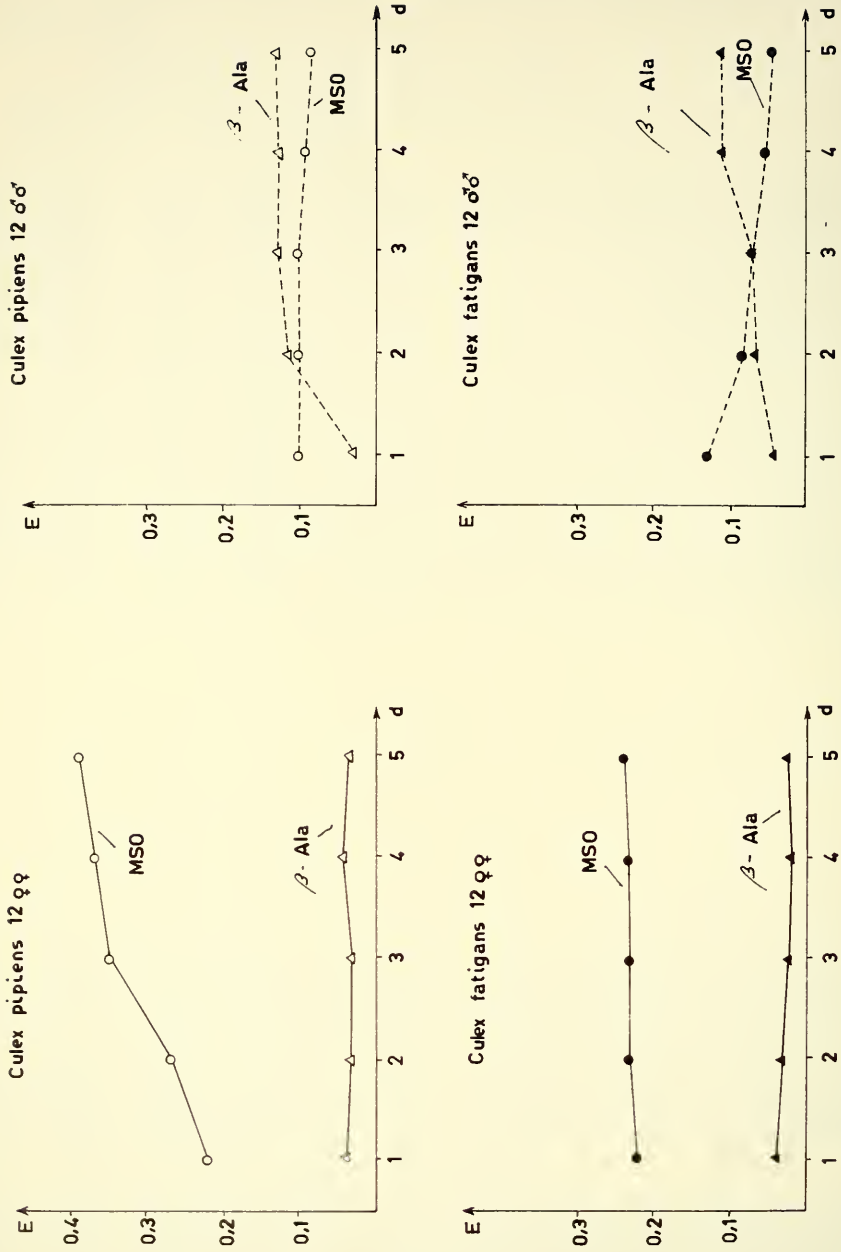

Abb. 2.
Methioninsulfoxyd (○ ●) und β-Alanin (△ ▲) pro 12 Weibchen (—) und 12 Männchen (---) von *Culex pipiens* (○ △) und *Culex fatigans* (● ▲) während der Adultentwicklung. (E = Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers, d = Tage).

gegenüber *Culex fatigans* (Abb. 1*a* u. 1*b*). Während des adulten Lebens nehmen sowohl das Frischgewicht (Tab. 1) wie die Gesamtmenge an ninhydrinpositiven Substanzen bei beiden Formen, in beiden Geschlechtern, vom ersten bis zum fünften Tag ab. Es besteht aber keine Korrelation zwischen Körpergewicht und Stoffmenge (siehe Abb. 1*a* u. *b* unten). Auch die meisten Aminosäuren nehmen mit zunehmendem Alter der Mücken an Quantität ab (Tab. 2*a* u. *b*). Valin, Leucin und Lysin werden so weit abgebaut, dass sie zur Zeit der Eiablage nur noch in Spuren oder gar nicht mehr nachweisbar sind. Peptide 2 und 3 sind von Anfang an nur spurweise vorhanden, sodass sich eine quantitative Auswertung nicht lohnt. Eine Ausnahme bilden Methioninsulfoxyd und β-Alanin (Abb. 2). Die 4-5 tägigen Weibchen von *Culex pipiens* und *Culex fatigans* haben ungefähr fünfmal soviel Methioninsulfoxyd wie die gleichaltrigen Männchen. Bei *pipiens*-Weibchen reichert sich diese Aminosäure vom ersten bis zum fünften Tag stark an, während bei *fatigans*-Weibchen die Menge annähernd gleich bleibt. Umgekehrt verhält sich β-Alanin, das bei den Männchen in weit grössern Mengen als bei den Weibchen vorkommt.

3. Diskussion.

Die freien Aminosäuren und Peptide wurden bei den verschiedensten Insekten vorwiegend im Larven- oder Puppenstadium untersucht. So zeigten Drilhon (1952) an *Macrothylacea rubi*, Sarlet et al. (1952) und Amanieu et al. (1956) an *Bombyx mori*, Hadorn and Mitchell (1951), Hadorn und Stumm-Zollinger (1953), Stumm-Zollinger (1954), Chen und Hadorn (1955), Benz (1957) und Faulhaber (1959) an *Drosophila melanogaster*, Chen und Hadorn (1954) an *Corethra pulmicornis*, Hackman (1956) an *Calliphora augur*, und schliesslich Chen und Kühn (1956) an *Ephestia kühniella*, wie der Gehalt an freien Aminosäuren und Peptiden von Art zu Art verschieden sein kann. Die Ergebnisse von Auclair und Dubreuil (1952) an *Galleria mellonella* sind für uns besonders interessant, weil sie von Adulttieren kommen, ebenso die Resultate von Laven und Chen (1956) und Chen (1958*a*), die von Mückenlarven oder Mückenpuppen, oder gar von adulten Mücken stammen (Clark and Ball 1951, 1952; Ball and Clark 1953; Micks and Ellis 1951, 1952; Micks 1954; Chen 1958*a*). Die Stoffinventare weisen bei diesen Autoren nur geringe Unterschiede

Tabelle 3.

Zusammenstellung der Ergebnisse über freie Aminosäuren bei Mücken (Larven, Puppen, Imagines) oder bei andern adulten Insekten.

	Auclair + Dubreuil (1952) *Galleria mellonella*	Clark + Ball (1951) *Culex tarsalis*	*Culex stigmatosoma*	*Aedes varipalpus*	Laven + Chen (1956) *Culex pipiens*	Chen (1958) *Culex pipiens*	Geiger (1961) *Culex pipiens*	*Culex fatigans*	Micks + Ellis (1951) *Culex pipiens*	*Culex salinarius*	*Culex quinquefasciatus*	*Aedes aegypti*	*Aedes sollicitans*	Chen (1958) *Culex pipiens*
		Larven oder Puppen					Imagines							
α-Alanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β-Alanin	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α-Aminobuttersäure	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
γ-Aminobuttersäure	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Arginin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asparaginsäure	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cystin	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
Glutamin	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
Glutaminsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Histidin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leucin/Isoleucin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methioninsulfoxyd	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	+
Prolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Taurin	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Threonin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tryptophan	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
Tyrosin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Valin/Methionin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Peptid 1	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
Peptid 2	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Peptid 3	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+

auf (Tab. 3). So fanden Micks and Ellis (1952) kein Cystin, wohl aber Taurin, das bekanntlich aus Cystein, einem Reduktionsprodukt von Cystin, gebildet wird. Tryptophan konnten wir bei vorliegender Untersuchungsbedingung nicht nachweisen. Den, anfänglich mit γ-aminobuttersäure bezeichneten Fleck, konnte Chen (1958*a*) mit einem spezifischen Test als Methioninsulfoxyd identifizieren. Ueber die bei meiner Arbeit auftretenden Peptide, sprechen sich die übrigen Autoren nicht aus. Ob die divergierenden

Ergebnisse am Objekt selbst, oder an der Methode liegen, bleibe dahingestellt. Ein einwandfreier Vergleich zwischen Stoffinventaren ist nur möglich, wenn bei einer standardisierten Technik gleichaltrige Tiere verwendet werden. Sonst können die Unterschiede durch die Methoden, das Alter oder durch die Art bedingt sein. Das larvale Leben ist bei *Drosophila melanogaster* durch eine Abnahme der Totalkonzentration an ninhydrinpositiven Stoffen charakterisiert (Hadorn und Stumm-Zollinger 1953; Chen und Hadorn 1955), wogegen bei *Ephestia*-Larven keine Verminderung zu bemerken ist (Chen und Kühn 1956). Nach Chen (1958*a*, 1959) bleibt sie bei *Culex pipiens* und *Culex fatigans* während der Larvenentwicklung konstant, um während der Metamorphose wieder abzunehmen. Nach Micks und Ellis (1951) besitzen die Larven die grösste Konzentration an freien Aminosäuren, dann folgen die Imagines, und die geringste weist das Puppenstadium auf. Sie stellten weiter fest, dass bei Adulttieren von *Culex quinquefasciatus* und *Aedes aegypti* die Konzentration der meisten Aminosäuren, einzeln und gesamthaft, grösser ist als bei *Aedes quadrimaculatus*. Ich machte dieselbe Feststellung bei *Culex pipiens* gegenüber *Culex fatigans* und fand ausserdem, dass bei Männchen und Weibchen beider Formen die Gesamtmenge an ninhydrinpositiven Stoffen mit zunehmendem Alter abnimmt.

Wie oben angeführt, zeichnen sich die Mückenweibchen durch eine Akkumulation von Methioninsulfoxyd, die Mückenmännchen hingegen durch eine Speicherung von β-Alanin, aus. Kaplan et al. (1958) fanden, dass die Weibchen von *Drosophila melanogaster* zweimal so viel Methionin enthalten wie die Männchen. Fox (1956*a*, 1956*b*) beschrieb bei *Drosophila melanogaster* ein Peptid, das immer in Männchen, niemals in Weibchen, auftritt. Er nennt es männliches « Sexpeptid ». Fox zerdrückte Fliegen direkt auf dem Filterpapier und liess die Chromatogramme zweidimensional absteigend laufen (Butanol: Eisessig: Wasser/Phenol). Bis zur Bestätigung dieser Befunde durch Fox et al. (1959) auch nach der Methode von Chen (1958*b*), schienen die abweichenden Resultate dieser Autoren auf methodischen Unterschieden zu beruhen. Fox et al. (1959) bestätigten diese Befunde auch mit der Methode von Chen (1958*b*). Diese Autoren stellten ferner auch fest, dass das Sexpeptid ebenfalls bei adulten Mückenmännchen vorkommt. Die neueren Untersuchungen in unserem Institut ergaben, dass der von

Fox beschriebene Stoff aus den Paragonien der männlichen *Drosophila*-Imagines stammt (Chen und Diem 1961). Hingegen konnte, selbst nach der Methode von Fox und Mitarbeitern, diese Substanz bei Mückenmännchen nicht nachgewiesen werden (Diem, unveröffentlicht). Auch in meinen Untersuchungen trat das männliche « Sexpeptid » nie auf.

In den Männchen sind pro Gewichtseinheit mehr ninhydrinpositive Substanzen vorhanden. Dieser Quotient ist auch bei *fatigans*-Weibchen grösser als bei *pipiens*-Weibchen, während sich die Kurven bei *fatigans*- und *pipiens*-Männchen annähernd entsprechen (Abb. 1 *a* u. *b*). Die in der Larvenzeit für die Dotterbildung angereicherten Stoffe machen beim adulten Weibchen den grössten Teil des Gewichtes aus. Bei diesen Reserven im Fettkörper, der bei den *pipiens*-Weibchen weit mächtiger ausgebildet ist, handelt es sich, nach Twohy und Rozeboom (1957) vorwiegend um Kohlehydrate, Fette und Eiweisse, deren Anreicherung bei Männchen allgemein geringer ist. Bei den Larven beider Formen scheint nach Chen (1959) ein Ausgleich in Bezug auf freie Aminosäuren und Blutproteine zu herrschen, da die autogene gegenüber der anautogenen Form grössere Mengen freier Aminosäuren pro Gewicht, aber weniger Proteine pro Volumen Hämolymphe, enthält. Baldwin (1957) zählt Valin, Leucin und Lysin, die nach meinen Ergebnissen und übereinstimmend mit Chen (1958*b*) bis zur Eiablage sehr stark abgebaut werden, zu den essentiellen Aminosäuren, was offenbar auch auf die beiden *Culex*-Formen übertragen werden darf. Nicht essentiell aber ist Methioninsulfoxyd, auf dessen geschlechtspezifisches Verhalten Chen (1958*b*) schon hingewiesen hat. Meine Untersuchungen bestätigen dies auch für die Form *Culex fatigans*. Es ist bekannt, dass Methionin als methylierendes Agens dient und leicht zu Methioninsulfoxyd oxydiert. Stekol (1955) hat mit der Tracermethode gezeigt, dass es möglich ist, Methionin durch Methioninsulfoxyd zu ersetzen. Es ist anzunehmen, dass auch in vivo der eine Stoff in den andern verwandelt werden kann.

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist, steigt die Gesamtmenge des Methioninsulfoxyds beim Weibchen von *Culex pipiens* (autogene Form) stark an, während sie beim Weibchen von *Culex fatigans* (anautogene Form) annähernd konstant bleibt. Dieses Verhalten lässt vermuten, dass diese Aminosäure zur Eireifung unbedingt

notwendig wäre. Unter dieser Annahme lassen sich die Methioninsulfoxyd-Kurven folgendermassen interpretieren: Die, unmittelbar nach dem Schlüpfen vorhandene Menge an Methioninsulfoxyd, reicht nicht aus, um die Eier zur Reife zu entwickeln. Der Stoff muss zusätzlich aufgebaut werden, was nur der Form *Culex pipiens* gelingt. Verfütterung von Methioninsulfoxyd sollte in dieser Frage Klarheit schaffen. Daher wählte ich Methioninsulfoxyd als Ausgangspunkt meiner weiteren Untersuchungen.

III. FÜTTERUNGSVERSUCHE.

1. An Adulttieren.

a) *Problem und Technik.*

Verschiedene Autoren sagen aus, dass Aminosäuren, dem Futter beigegeben, die Eientwicklung beeinflussen können. Greenberg (1951) berichtet, dass die Eiproduktion bei *Aedes aegypti* durch Isoleucin, nicht aber durch ein Gemisch von Methionin, Valin, Phenylalanin, Tryptophan, Threonin, Leucin, Arginin, Histidin und Lysin, angeregt wird. Dimond et al. (1956) fanden, dass, ebenfalls bei *Aedes aegypti*, die Anzahl der Eier pro Paket kleiner wird, wenn Methionin in der Diät fehlt. Sie bezeichnen ferner Arginin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin, als für die Entwicklung der Eier unbedingt notwendige Aminosäuren. Die Fütterungsversuche sollten also vorerst den Einfluss von Methioninsulfoxyd auf die Eientwicklung untersuchen, ausserdem zeigen, ob die, bei Dimond et al. (1956) angeführten Aminosäuren ohne Zusätze auch für die beiden *Culex*-Formen essentiell sind, und schliesslich noch aufzuklären versuchen, was β-Alanin, Leucin/Valin und Histidin, deren Kurvenverlauf noch besonders interessierte, bewirken. In Laboratorien pflegt man den Mücken Zuckerlösung oder Früchte als Nahrung anzubieten. Es bleibt abzukären, ob dadurch die Eiproduktion beeinflusst werde.

Die beiden Zuchten waren getrennt in Thermostaträumen bei 25° ± 1° C, unter möglichst gleichen Bedingungen, gehalten. Die Eipakete, während des ganzen Tages und der Nacht, aber mit deutlicher Häufung am frühen Morgen und gegen Abend abgelegt, wurden, unmittelbar nach der Ablage, in Halbrundschalen ge-

bracht, wo nach 40-42 Stunden, in Ausnahmefällen bis 46 Stunden, die jungen Larven ausschlüpften (siehe auch OELHAFEN, 1961). Um einen « Crowded effect » zu verhüten, kamen davon höchstens je 40 Individuen in Zuchtgläser von 12 cm Durchmesser, die mit 450 ml Leitungswasser gefüllt waren. Mit dem Einsetzen der jungen Larven begann auch deren Fütterung mit gemahlenem Hundekuchen. Die Futtergaben lassen das Wasser nach dem zweiten Tag häufig faulig werden. Die Larven, die bis da in einer nahrhaften Mikrobiose prächtig gedeihen, laufen Gefahr, zu Grunde zu gehen. Wasser und Futter wurden deshalb von diesem kritischen Zeitpunkt an, täglich gewechselt. Bei diesen Zuchtbedingungen brauchen die *Culex pipiens*-Larven 10-15 Tage bis zur Verpuppung. Nach zwei Tagen Puppenruhe, schlüpfen zuerst die Männchen, dann die Weibchen, die, ohne weiter ernährt zu werden, nach 5-6 Tagen ein Gelege absetzen. Die Verpuppung der *Culex fatigans*-Larven erfolgt in der Regel 24 Stunden früher als bei der autogenen Form, da sie kleinere Mengen Fett akkumulieren. Bei beiden Formen kamen die Puppen in besondere Schlüpfgläser, die zu einem Drittel mit Wasser gefüllt und oben mit Gaze abgeschlossen waren.

Die Fütterungsversuche konnten erst beginnen, wenn nachgewiesen worden war, dass die Versuchstiere die dargebotene Nahrung auch wirklich aufgenommen hatten. Vitalfärbung nach SCHMID (1949), sollte diesen Nachweis erbringen. In einem Vorversuch diente zur Kontrolle ein, mit einer 10%igen Rohrzuckerlösung getränkter Wattebausch, als Futterquelle, auf der andern Seite war die Rohrzuckerlösung mit 10 Tropfen gesättigter Methylenblaulösung angefärbt. Die makroskopische Untersuchung der Tiere am dritten Tag ergab, wie vermutet, keinerlei Färbung bei den Kontrollen. Die Abdomen der markierten Mücken waren tief blau gefärbt. In einem weiteren Vorversuch wurde der eine Wattebausch mit reiner Methylenblaulösung, der andere mit Methylenblau + Asparaginsäure (0,5%) durchtränkt, mit dem Erfolg, dass in beiden Fällen keine Tiere markiert waren. Entweder waren 10 Tropfen der 1%igen Farblösung zu wenig, oder die Tiere verschmähen Aminosäuren allein. Diese Frage konnte durch eine einfache Versuchsanordnung geklärt werden:

a)	Methylenblau	+	Rohrzuckerlösung	+	Asparaginsäure
	10 Tr. 1%		10%		0,5%

b) Methylenblau + Rohrzuckerlösung
10 Tr. 1% 10%

c) Methylenblau + Asparaginsäure
20 Tr. 1% 0,5%

Die Versuche *a*) und *b*) waren erfolgreich, die Abdomen der Tiere blau angefärbt. Die Tiere der Versuchsanordnung *a*) wurden ausserdem chromatographisch mit ungefütterten verglichen. Asparaginsäure, absichtlich gewählt, weil sie in den Kontrollen immer nur in Spuren vorkommt, war im Testchromatogramm viel konzentrierter. Im Versuch *c*) aber blieben die Mücken, trotz stärkerer Methylenblaukonzentration, ungefärbt. Die Versuche wurden mit Methioninsulfoxyd, β-Alanin und einem Gemisch von Valin/Leucin wiederholt und zeitigten dieselben Ergebnisse. Die Farbe scheint hier für die Anlockung keine Bedeutung zu haben, waren doch in allen Versuchen die Lösungen blau gefärbt. Vielmehr scheint der Rohrzucker den stark ausgeprägten Geruchsinn der Mücken anzuregen. Verschiedene Autoren machten ähnliche Beobachtungen. So gaben Lea et al. (1956) den verfütterten Proteinlösungen immer Zucker bei. Knierim et al. (1955) fütterten, im Eisschrank konserviertes Citratblut, wo es haemolysierte. Dem aufgetauten Blut musste eine 10%ige Honiglösung beigemengt werden, um die Mücken anzuziehen. Methioninsulfoxyd, β-Alanin und Valin/Leucin allein, werden nicht aufgenommen; hingegen sollen nach Rudolfs (1922) verschiedene andere Aminosäuren die Mücken zum Saugen veranlassen. Nach diesen Vorversuchen waren die Voraussetzungen für die eigentlichen Fütterungsversuche erfüllt.

Gazekäfige (25×25×25 cm), darin eine Schale mit täglich erneuertem Brunnenwasser für die Eiablage, schufen, bei 25° ± 1° C gehalten, für alle Versuche gleiche Bedingungen. Verschieden war nur die dargebotene Nahrung. Je 12, vier Stunden alte Weibchen und Männchen, bevölkerten jeweilen die Käfige. Die Tiere mussten möglichst jung sein, damit sich die aufgenommenen Substanzen frühzeitig auswirken konnten. Die Gelege wurden zweimal täglich eingesammelt und die Eier sogleich unter dem Binokular gezählt.

b) *Ergebnisse.*

Die Kontrollgelege enthielten durchschnittlich 106 Eier, während die entsprechenden Zählungen bei Möllring (1956) für die

autogene Form 60-80 Eier ergaben (Tab. 4). Das Auszählen nach Rohrzuckerfütterung lieferte durchschnittlich 89 Eier pro Gelege, eine Zahl, die etwas unter der Kontrolle liegt. Der Unterschied ist statistisch nicht gesichert. Auch zu Vergleichszwecken verabreichter Glukose-Zucker und Apfelnahrung führten zu denselben Ergebnissen. Nach Verfütterung von β-Alanin, Histidin, Valin/Leucin, dem, bei Dimond et al. (1956) erwähnten Gemisch und sämtlichen, in den Mücken festgestellten Aminosäuren, entspricht die durchschnittliche Eizahl pro Gelege den Kontrollen. Einzig bei Methioninsulfoxyd ist die Zahl 83 etwas tiefer, liegt aber noch im Streuungsbereich. Bei *Culex fatigans* verliefen alle Fütterungsversuche resultatlos. In keinem Fall kam es zur Eiablage. Mit der später zu beschreibenden Transplantationstechnik wiederholte ich die Fütterungsversuche durch Injektion der Aminosäuren und erhielt dieselben Resultate (Tab. 4).

Tabelle 4.

Eizahlen pro Gelege von Culex pipiens *nach Verfütterung von Zucker und verschiedenen Aminosäuren und nach deren Injektion an Adulten.*

ohne Nahrung	Zuckerwasser	Alanin	Methioninsulfoxyd	Histidin	Valin/Leucin	8 Aminosäuren (nach Dimond et al. 1956)	alle Aminosäuren (nach Stoffinventar)
Culex pipiens — Eiablage in % aller Weibchen							
81 %	84 %	85 %	83 %	80 %	82 %	84 %	92 %
Eier / Paket = Eier / Weibchen							
106	89	100	83	107	105	92	109
Injektion							
105		94	85	88	105		

c) *Diskussion.*

Es ist bekannt, dass mit Verschlechterung der Ernährungsbedingungen bei autogenen Mücken nicht alle Weibchen Eier legen

(WEYER 1935). MÖLLRING (1956) schliesst aus seinen Versuchen, dass bei autogenen *Culex*-Weibchen, gleichgültig unter welcher Bedingung sie aufwachsen, die autogene Eibildung regelmässig einsetzt. Die Art der Larvenernährung entscheidet dann, ob das Gelege im Ovar fertig entwickelt wird und auch, wie gross dieses Gelege ist. Nach meinen Beobachtungen kommt es auch in gut gedeihenden Kulturen selten zu hundertprozentigen Eiablagen. Immer gibt es eine kleine Anzahl Weibchen, die kein Gelege absetzen, was die Prozentzahlen in Tabelle 4 ausdrücken. Wenn es sich um schlechte Ernährungsbedingungen handeln würde, müsste dies auch in der Gelegegrösse zum Ausdruck kommen. Die durchschnittliche Eizahl pro Gelege, die MÖLLRING in seiner Arbeit (1956) für die autogene Form angibt, liegt aber erheblich unter meinem errechneten Durchschnitt. Es scheint nicht nur auf die Ernährung anzukommen, ob autogene Mückenweibchen ihre Eier ablegen, oder nicht. Die erwähnten Unterschiede in der durchschnittlichen Gelegegrösse können durch verschiedene Faktoren bedingt sein: Die Untersuchungen sind nicht am gleichen *Culex pipiens*-Stamm durchgeführt worden. Die beiden Stämme variieren möglicherweise spezifisch in der Eizahl. Trotz aller Sorgfalt waren vorübergehende Aufzuchtschwierigkeiten nicht zu vermeiden.

Meine Fütterungsversuche fielen in eine Zeit bester Zuchtverhältnisse. Für die Aufzucht wählte ich immer nur die frühesten, grössten Gelege aus, die erfahrungsgemäss die kräftigsten und gesundesten Tiere lieferten. Es mag sein, dass damit eine gewisse Selektion erfolgte, die sich auch auf die Eizahl günstig auswirkte.

Die Fütterung mit Zuckern und Früchten brachte ein etwas unerwartetes Resultat. Man hätte, gegenüber den Kontrollen, eine grössere Eizahl pro Gelege vermutet. Zucker scheinen aber die Eientwicklung nicht zu beeinflussen. Dieser Ansicht sind auch LEA et al. (1956). Zucker und Früchte dienen in Laboratorien nur als Energiequelle für den Erhaltungsstoffwechsel. Nachdem es LEA et al. (1956) gelungen war, mit Magermilch und Honig bei den anautogenen Arten *Aedes aegypti* und *Anopheles quadrimaculatus* reife Eier zu erhalten, stellten sie entsprechende Experimente mit Aminosäuren an. Ihre Versuche waren erfolgreich. Sie erwirkten Eiablagen auf einem Medium von Dextrose, Lävulose, Salzen und bestimmten Aminosäuregemischen. Durch Weglassen einzelner Aminosäuren aus dieser Diät kamen DIMOND et al. (1956), mit

Lea zusammen eine Forschergruppe bildend, auf die bereits früher erwähnten, essentiellen Aminosäuren und betonen, dass ausserdem Mineralsalze und Vitamine zur Eibildung unbedingt notwendig seien. Meine Versuche gingen darauf aus, den Einfluss von Aminosäuren ohne Zusätze (mit Ausnahme von Zucker als Attraktionsmittel), auf die Eireifung, zu untersuchen. Die beiden reinen Aminosäuregemische in den verwendeten Konzentrationen bringen die Eier von *Culex fatigans* nicht zur Reife. Dimond und Mitarbeiter (1956) machten ihre Feststellungen immer an Aminosäuregemischen. Nie haben sie Aminosäuren einzeln verfüttert. Nach diesen Autoren ist die Zahl der abgelegten Eier beim Fehlen von Methionin und Histidin in der Diät stark reduziert. Die Verabreichung von Methioninsulfoxyd und Histidin einzeln, lässt die Zahl der Eier pro Gelege bei *Culex pipiens* nicht ansteigen, wie man vermuten könnte. *Culex fatigans* legt keine Eier. Es hat den Anschein, als ob bestimmte Aminosäuren nur im Aminosäurengemisch, oder gar in einem Gemisch, das gleichzeitig noch diverse Zucker und Salze enthält, die Eiproduktion beeinflussen können.

2. An Larven.

a) *Problem und Technik.*

Es drängte sich die Frage auf, ob unter Umständen die verschiedenen Aminosäuren zu spät verabreicht worden waren, um die Eiproduktion entscheidend beeinflussen zu können. *Culex fatigans* braucht zur Eiablage Blut und kann es sich leisten, larval weniger Fett, Proteine und Glykogen anzureichern. Ein Ueberangebot an Aminosäuren, während der Larvenzeit, könnte z. B. das Verhältnis der Reservestoffe untereinander verschieben, was wiederum die Eientwicklung positiv beeinflussen könnte. Dieselbe Behandlung würde bei *Culex pipiens* eine grössere Eiproduktion bewirken.

Auf Grund der bisherigen Resultate hatte sich eine Theorie geformt: Bei *Culex pipiens* und *Culex fatigans* ist ein bestimmter Stoff, direkt oder indirekt, für die Eireifung verantwortlich. Bei *Culex pipiens* ist dieser Stoff in der larvalen Reserve in grösseren Mengen vorhanden, wird dann abgebaut und ist nach der Eiablage unter einen bestimmten Schwellenwert gesunken. Zur Ausreifung

eines weitern Geleges reicht er nicht mehr aus. Durch die Nahrung muss dieser Stoff selbst, oder Substanzen, woraus er synthetisiert werden kann, den Weibchen zugeführt werden. Blut erfüllt diese Voraussetzungen, während die freien Aminosäuren, wie meine Untersuchungen gezeigt haben, versagen. Bei *Culex fatigans* liegt der Fall etwas anders. Selbst das erste Gelege wird erst nach Blutaufnahme abgesetzt. Der betreffende Stoff ist anfänglich überhaupt nicht, oder nur in Mengen unter dem Schwellenwert, vorhanden. Die Ausgangssituation der anautogenen Form würde bei der autogenen dem Stadium nach der ersten Eiablage entsprechen. Wenn nun den Larven zur Nahrung Blut angeboten wird, sollten sie daraus einerseits die, für die Dottersynthese notwendigen Substanzen speichern und anderseits jenen, für die Auslösung der Eireifung wichtigen Stoff, anreichern. Es wäre deshalb eine grössere durchschnittliche Eizahl und, unter Umständen wiederholte Eiablage bei *Culex pipiens*, zu erwarten. Bei der anautogenen Form würde diese Ernährung eine « autogene » Eiablage bewirken. Die Aufzucht der Larven geschah auf die früher beschriebene Art. Nur die tägliche Nahrung unterschied sich durch einen Zusatz von Methioninsulfoxyd, oder β-Alanin, oder einem der beiden, schon bei der Adultfütterung verabreichten Aminosäuregemischen. Fein zerriebener Hundekuchen wurde in 0,2%ige Lösungen dieser Aminosäuren, die zu Markierungszwecken mit Methylenblau angefärbt waren, gegeben und stehen gelassen, bis er vollständig durchtränkt war. Die Kontrollen hingegen bekamen gewöhnlichen Hundekuchen vorgesetzt. Stichproben unter dem Binokular ergaben leichte Blautönung der Versuchstiere, gegenüber der Normalfärbung der Kontrollen. Blut wurde wie die Aminosäuren verfüttert, wobei auf die Zugabe von Methylenblau verzichtet werden konnte. Die Farbe des Blutes genügte völlig als Markierung. Die Blut-Zuchten gediehen recht gut, wenn das Wasser täglich zweimal gewechselt wurde, um ein Faulen zu verhindern. Zur Erhaltung der *fatigans*-Zuchten wird in unserem Institut Hühnerblut verwendet. Für diese Versuche wurde menschliches Blut vorgezogen.

b) *Ergebnisse.*

Die larvale Entwicklung beider Formen dauerte, nach Fütterung mit Aminosäuren, ebensolang wie die der Kontrollen. Auch der

Zeitpunkt der Eiablage bei *Culex pipiens* blieb sich gleich. Die Eier wurden in der Regel am fünften Adulttag abgelegt. Die Eizahl pro Gelege entsprach etwa den Kontrollen (Tab. 5). Eine statistische Ueberprüfung der leicht erhöhten Zahlen für Methioninsulfoxyd und β-Alanin ergab, dass sie nicht gesichert sind. Bei *Culex fatigans* traten die erhofften anautogenen Gelege nicht auf. Die Resultate der Larvenfütterung mit Citratblut erfüllten die Erwartungen nicht (Tab. 5). Die Versuchstiere unterschieden sich in der Eizahl nicht von den Kontrollen. Zu mehr als einer einzigen Eiablage pro Weibchen kam es nie. *Culex fatigans* legte auch jetzt keine Eier.

Tabelle 5.

Eizahlen pro Gelege nach Fütterung der Larven von Culex pipiens *mit Aminosäuren und Blut.*

Culex pipiens					
Kontrolle	β-Alanin	Methionin-sulfoxyd	8 Aminosäuren (nach Dimond et al. 1956)	Alle Amino-säuren (nach Stoffinventar)	Citratblut
106	121	124	105	100	97

c) *Diskussion.*

Goldberg and De Meillon (1947) und Lea et al. (1956) zogen *Aedes*-Larven auf synthetischen, chemisch definierten Medien, um den Einfluss verschiedener Stoffe auf das Wachstum, zu untersuchen. Die Autoren äussern sich weder zur Speicherung dieser Stoffe im Fettkörper, noch über deren Einfluss auf die Eiablage. Der Diät sind 17 Aminosäuren beigemengt. Nach Goldberg and De Meillon (1947) sind Glycin, Leucin, Isoleucin, Histidin, Arginin, Lysin, Tryptophan, Threonin, Phenylalanin und Methionin, für das gute Gedeihen der Larven unbedingt notwendig. Bei Fehlen bestimmter Aminosäuren (Phenylalanin, Tyrosin) entwickeln sich die Larven schlecht und stellen schliesslich das Wachstum ein. Die Eiweisse in der Hundekuchen-Nahrung unserer Zuchten genügen offensichtlich für ein gutes Wachstum und somit für eine entsprechende Eiablage. Zusätzliche Aminosäuren ändern nichts daran.

Aus schon erwähnten Gründen führte ich die Versuche mit menschlichem Blut durch, obschon WOKE (1937) an *Aedes aegypti* und vor allem ROUBAUD und METZGER (1943) Erhöhung der Eizahlen bei Mücken, nach Tierfütterung, festgestellt hatten. Wenn bei *Aedes* nach Fütterung der Adulten mit menschlichem Citratblut (TATE and VINCENT 1936) und bei unseren *Culex fatigans*, nach Verabreichung von menschlichem Citratblut an die Larven, nie eine Eiablage erreicht werden konnte, so besteht die Möglichkeit, dass der Citratzusatz im menschlichen Blut zu diesem Misserfolg geführt hat. Ein Versuch sollte diesen Punkt abklären: *fatigans*-Weibchen und auch *pipiens*-Weibchen, die ihr autogenes Gelege bereits abgesetzt hatten, wurden auf Watte, welche mit menschlichem Citratblut getränkt war, gesetzt. Nach kürzester Zeit hatten sich die Tiere vollgesogen; der Mitteldarm war prall gefüllt. Bis zum fünften Tag war in den meisten Fällen alles Blut verdaut und die Ovarien beider Formen lieferten reife Eier. Dieser Befund besagt zweierlei: Es ist möglich, bei *Culex pipiens* und *Culex fatigans* mit menschlichem Citratblut Eiablagen zu erzielen, was TATE und VINCENT (1936) nicht erreicht hatten. Es ist nicht die Zugabe von Citrat zum Blut, die eine Eireifung nicht zulässt.

Alle erwähnten Fütterungsversuche liessen immerhin die Frage offen, ob die Ovarien der Versuchstiere durch die Aminosäuren histologisch verändert werden.

IV. HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DER OVARIEN.

1. PROBLEM UND TECHNIK.

Die Beantwortung dieser Frage erforderte das Studium der normalen Ovarentwicklung und, anschliessend, deren Vergleich mit Eierstöcken von aminosäuregefütterten Tieren. MÖLLRING (1956) suchte im Ovar nach einem Unterscheidungsmerkmal zwischen *Culex pipiens* und *Culex fatigans*, für die Aufklärung systematischer Streitfragen. Das Studium der normalen Ovarentwicklung erfolgte in beiden Fällen offensichtlich mit ganz verschiedenen Zielen. MÖLLRING's Untersuchungen umfassten entsprechend auch den Eikern und die Kerne der Nährzellen. Ich hingegen richtete das Augenmerk hauptsächlich auf die Gesamtheit

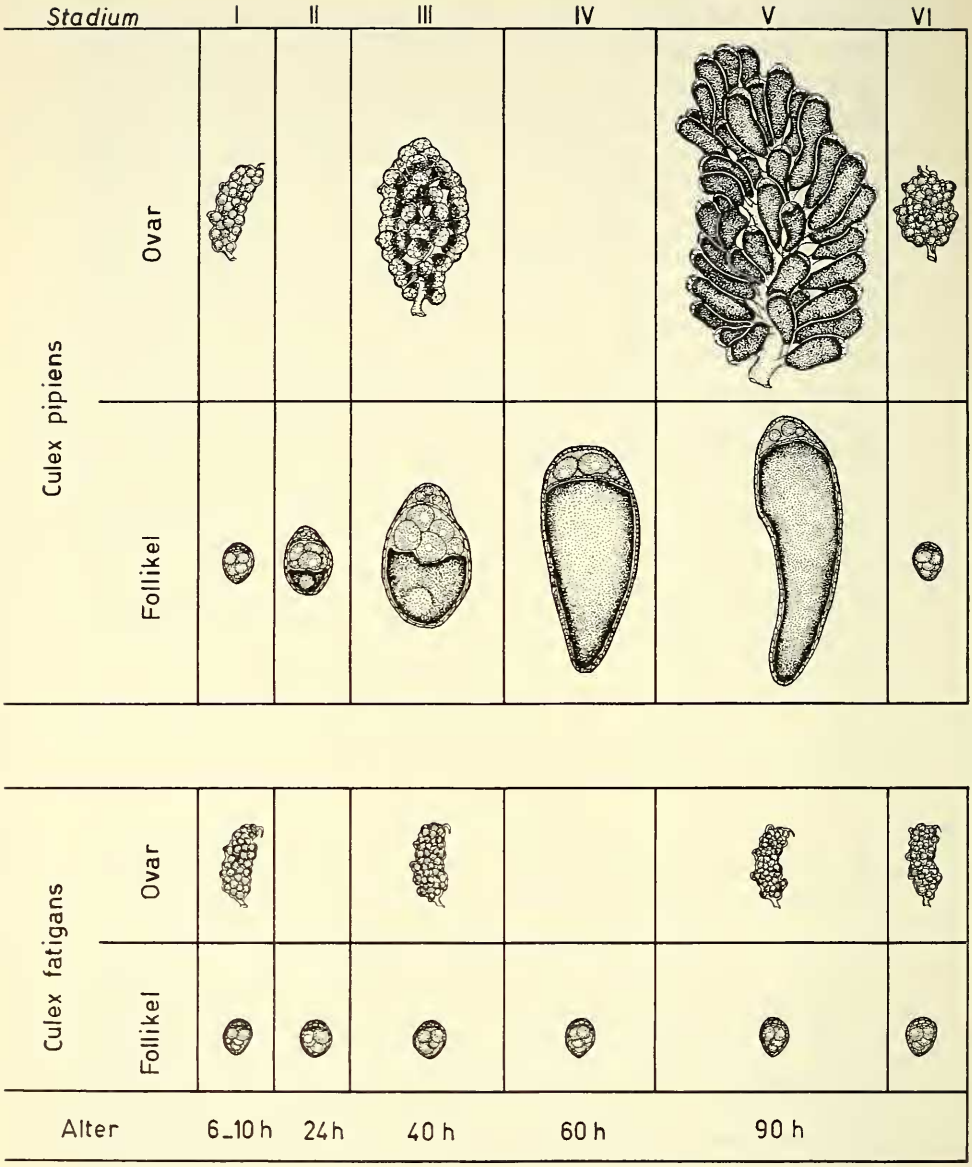

Abb. 3.

Entwicklung von Ovar und Follikel bei frischgeschlüpften adulten *Culex pipiens*-Weibchen bis kurz nach der autogenen Eiablage und bei *Culex fatigans*-Weibchen bis zum entsprechenden Alter, bei 22° C. Die Stadien I-VI sind charakteristische Altersstufen.

des Ovars und die einzelnen Follikel, aus der Ueberlegung, dass Aminosäuren kaum Veränderungen im Kern bewirken, sich hingegen in der Dotterbildung auswirken könnten.

Normalerweise ist der histologische Schnitt die genaueste Untersuchungsmethode. Diese Technik war aber für Möllring's Zwecke unbefriedigend, da sie in allen Altersstufen Schnittserien einer grössern Zahl von Tieren erforderte. Die Totalpräparation war anschaulicher, ermöglichte die direkte Untersuchung des Ovars und liess in kurzer Zeit weit mehr Material verarbeiten. Er bediente sich des Phasenkontrastverfahrens. Seine guten Erfahrungen und die Vergleichbarkeit unserer Resultate bewogen mich, dieselbe Technik anzuwenden.

Die Präparation der paarigen Ovarien, bei 35-facher Binokularvergrösserung, in steriler Holtfreterlösung, bot keine Schwierigkeiten. Nach Betäuben der Mücken mit Aether, wurde der Chitinpanzer mit je einer Uhrmacherpinzette, beim Uebergang Thorax-Abdomen und dem letzten Abdominalsegment, gefasst und auseinandergezogen. Die Weichteile quollen heraus und lagen offen da. Die Ovarien, augenfällig durch gute Tracheenversorgung, wurden mit 6-10 μ dicken Wolframnadeln freipräpariert. Für gelegentliche, momentane Kernfärbungen, genügte ein Tropfen Orcein-Essigsäure.

2. Ergebnisse.

Aus Abbildung 3 sind die Entwicklung von Ovarien und Ovariolen, bei *Culex pipiens*, bis nach der autogenen Eiablage und die entsprechenden Stadien, bei *Culex fatigans*, ersichtlich. Die anfänglich kugelförmigen Ovariolen sind von sieben Nährzellen und einer, basal zum Eistiel gelegenen Eizelle, angefüllt. Dem ältesten Follikel sitzen höchstens drei jüngere auf. Bis zum Alter von 12 Stunden ist keinerlei Dotterbildung festzustellen. Sie setzt etwas später in starkem Masse ein. Hand in Hand mit der Zunahme der Dottermassen, geht das Wachsen der Follikel, die nach ca. 40 Stunden das Fünffache der ursprünglichen Grösse, wovon der Dotter ⅔ ausmacht, einnehmen. Die Ovariolen nehmen mehr und mehr die endgültige Form der Eier an. Die zusammengeschrumpften Nährzellen sind durch den Dotter zum distalen Ende gedrängt. Diese starke Anreicherung von Dottermaterial lässt auch das Anwachsen des zuerst sehr kleinen Ovars, auf das 20-fache, gut

verstehen. Allerdings verläuft die Eientwicklung im Ovar nicht gleichmässig. Man findet neben Follikeln mit geringer Dotterablagerung auch solche, die fast bis zur Hälfte mit Dotter gefüllt sind. Die Stadien in Abbildung 3 stellen Durchschnittsfollikel dar. Nach der autogenen Eiablage (Stadium VI) sind Ovar und Ovariolen wieder im Stadium I, und ihre Entwicklung steht still. Erst nach einer Blutmahlzeit wiederholt sich die beschriebene Eireifung. Stadium VI lässt sich vom Stadium I nur dann mit Sicherheit unterscheiden, wenn in Ovar oder Ovidukt vereinzelte Eier stecken geblieben sind. Hingegen handelt es sich bestimmt um Stadium I, wenn auf dem alten, drei jüngere Follikel festzustellen sind. Sonst sind sich die beiden Stadien gleich. Ovar und Ovariolen des zwölf Stunden alten, anautogenen Weibchens, entsprechen denen der autogenen Form, zum selben Zeitpunkt. Ueber dieses Ruhe- und Wartestadium hinaus, geht aber seine Follikelentwicklung nicht. Erst eine Blutmahlzeit unterbricht den Entwicklungsstillstand und lässt Ovar und Ovariolen entsprechend der autogenen Form anwachsen. Trotz genauester Untersuchungen konnten nach Verfütterung von β-Alanin, Methioninsulfoxyd, Valin und Leucin, gegenüber den Kontrollen, keinerlei Veränderungen in Ovar und Ovariolen festgestellt werden.

3. Diskussion.

Weyer (1935) führte für die Diagnose « autogen-nichtautogen » einen Ovarialunterschied, schon in der Puppe, an. Er fand das Ovar der autogenen *Culex*-Form « im ganzen weiter entwickelt ». Bei Möllring (1956) hingegen besteht in diesem Stadium noch kein Unterschied zwischen den Follikeln autogener und anautogener Mückenweibchen. Die Unterscheidung beginnt bei ihm erst nach dem Schlüpfen der Imago. Meine Untersuchungen an frischgeschlüpften Tieren, die sich auf Vergrösserung, Formveränderung und Dotterbildung in Ovar, bzw. Follikel beschränkten, ergaben etwas grössere Follikel in den autogenen Ovarien. Die Diagnose wird mit fortschreitendem Alter der Mücken leichter und eindeutiger. An den anautogenen Follikeln ist keine Veränderung ersichtlich. Ihre Grösse bleibt sich gleich, und Dotterbildung tritt niemals ein. Ihre Entwicklung steht still. Die autogenen Follikel aber wachsen durch Dottereinlagerung in fünf Tagen zum reifen Ei

aus. Die in Abbildung 3 aufgeführten Entwicklungsstadien entsprechen denjenigen von Larsen and Bodenstein (1959) und sind unabhängig davon bestimmt worden. Möllring (1956), der zu denselben Resultaten gelangt war, beschrieb auf Grund seiner Studien an den Follikelkernen einen weitern Unterschied. In der frischgeschlüpften, nichtautogenen Imago, haben Nährzellen noch kompakte Nukleoli. Innerhalb von 48 Stunden gliedern sich diese auf, womit ein Ruhe- und Wartestadium erreicht ist. Dieses Stadium entspricht dem nach erfolgter Eiablage. Denselben Zustand trifft man auch in den Ovarien von nichtautogenen *Culex pipiens*, die aus der Ueberwinterung gefangen werden. Bei der autogenen Form finden sich zum vornherein aufgeliederte Nukleoli in den Nährzellkernen des Ovars frischgeschlüpfter Weibchen vor, zumindest in einigen Follikeln. Hier handelt es sich jedoch nicht um ein Ruhestadium. Innerhalb von sechs Tagen werden aus den, im Körper vorhandenen Reserven, die Eier gebildet. Nach der Ablage tritt wieder das Ausgangsstadium ein, das jetzt auch ein Ruhestadium geworden ist. Die beiden Formen lassen sich nun anhand der Follikel nicht mehr unterscheiden.

V. RELATION OVARENTWICKLUNG - METHIONINSULFOXYD

1. Problem und Methoden.

Ein Vergleich der Methioninsulfoxyd-Kurven (Abb. 2) mit der Ovarentwicklung (Abb. 3) lässt folgende, in Abbildung 4 zusammengefasste, Ueberlegung anstellen. Bei *Culex fatigans* bleibt das Ovar, ohne Blutnahrung, auf einem bestimmten Anfangsstadium stehen, und auch die Methioninsulfoxyd-Menge bleibt sich während des Entwicklungsstillstandes gleich. *Culex pipiens* hingegen, liefert nach fünf Tagen reife Eier, und die Methioninsulfoxyd-Kurve steigt unterdessen stark an. Es hat den Anschein, als ob der zusätzliche Aufbau von Methioninsulfoxyd nur durch ein, sich entwickelndes Ovar, angeregt würde. Demnach wäre Methioninsulfoxyd als Stoffwechsel-Nebenprodukt, während der Synthese der Dottereiweisse, aufzufassen. Der letzte Teil meiner Arbeit soll der Bestä-

tigung dieser Annahme gewidmet sein. Der Nachweis kann auf zwei verschiedene Arten erbracht werden.

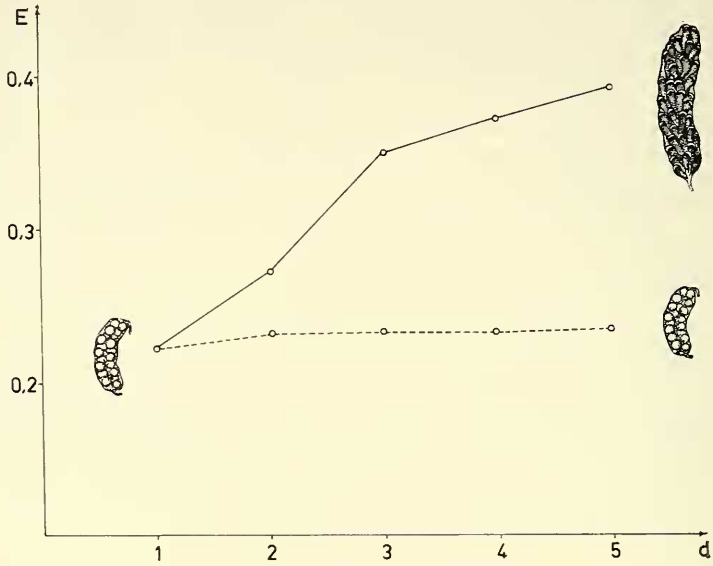

Abb. 4.

Veränderung der Konzentration von Methioninsulfoxyd und Veränderung der Ovarien während der Adultentwicklung bei *Culex pipiens*- und *Culex fatigans*-Weibchen. (E = Extinktion in Einheiten des Beckmanphotospektrometers, d = Tage). o — o *Culex pipiens*, o --- o *Culex fatigans*.

a) *Rein chromatographischer Nachweis.*

α) *Problem und Technik.*

Zuerst war das Verhalten von Methioninsulfoxyd bei *pipiens*-Weibchen, nach der autogenen Eiablage, chromatographisch zu überprüfen. Ovar und Ovariolen befinden sich in einem Entwicklungsstillstand, der erst durch eine Blutmahlzeit aufgehoben wird. Gemäss meiner Annahme müsste sich die Methioninsulfoxyd-Menge gleichbleiben und die Kurve entsprechend horizontal verlaufen. Anderseits würde nach Blutnahrung, welche ja die Eireifung einleitet, die Menge an Methioninsulfoxyd sowohl bei *fatigans*-Weibchen jeden Alters, als auch bei *pipiens*-Weibchen nach der ersten Eiablage, gegenüber den Kontrollen ansteigen.

Die chromatographische Technik war genau dieselbe, wie eingangs, bei der Stoffinventaraufnahme, beschrieben. Für die Me-

thioninsulfoxyd-Bestimmungen vom fünften bis zum achten Adulttag bei *Culex pipiens*, wurden jeweilen 12 Weibchen verarbeitet. Im zweiten Versuch wurde die Methioninsulfoxyd-Menge vier Tage nach der Blutmahlzeit, d. h. unmittelbar vor der Eiablage, bestimmt. Aus zwei Gründen fanden hier 8-tägige *pipiens*-Weibchen Verwendung. Erfahrungsgemäss werden die Eier vom fünften bis siebten Tag nach dem Schlüpfen, abgelegt. Ab achtem Tag trifft man meist Ovarien im Wartestadium an. Die Mortalität der Mücken nimmt mit zunehmendem Alter stark zu. Durchschnittlich hat ein *pipiens*-Weibchen ohne Nahrung aufzunehmen, etwa vierzehn Tage zu leben. Wenn also am achten Tag mit der Fütterung begonnen wird, bleibt der grösste Prozentsatz der Tiere bis zum zwölften Tag noch in gutem Zustand.

β) *Ergebnisse.*

Wie aus Tabelle 6 ersichtlich ist, bleiben sich die Methioninsulfoxyd-Mengen bei *pipiens*-Weibchen vor, und einige Tage nach der Eiablage, nahezu gleich. Wie bereits erwähnt, befinden sich die Ovarien während dieser Periode in einem Entwicklungsstillstand. Anderseits bewirkt eine Blutmahlzeit, an *Culex pipiens*-Weibchen nach der autogenen Eiablage, und an Weibchen von *Culex fatigans*, verabreicht, in beiden Fällen eine Erhöhung des Gehalts an Methioninsulfoxyd gegenüber den Kontrollen (Tab. 7). Die Werte sind gesichert. Dies deutet darauf hin, dass die Zunahme des Methioninsulfoxyds auf das Wachstum des Ovars zurückzuführen ist.

Tabelle 6.

Verhalten von Methioninsulfoxyd (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers) um die Zeit der Eiablage (0) *bei* Culex pipiens *pro 12 Weibchen bei 22° C.*

(n = Anzahl der Bestimmungen, M = Mittelwerte, S = Streuung.)

Culex pipiens							
n	5. Tag	n	6. Tag	n	7. Tag	n	8. Tag
7	0,386 ± 0,010	8	0,365 ± 0,013	7	0,406 ± 0,012	7	0,385 ± 0,010

Tabelle 7.

Verhalten von Methioninsulfoxyd (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers). Kontrolle: *12 Weibchen* Culex pipiens *(8 Tage alt) und 12 Weibchen* Culex fatigans *(4 Tage alt).* Versuch: *4 Tage nach Verabreichung einer Blutmahlzeit bei 22° C.*

(n = Anzahl der Bestimmungen, M = Mittelwerte, S = Streuungen.)

Culex pipiens			*Culex fatigans*		
n	Kontrolle	Versuch	n	Kontrolle	Versuch
7	0,380 ± 0,011	0,464 ± 0,007	7	0,230 ± 0,006	0,295 ± 0,006

b) *Transplantationen und deren chromatographische Auswertung.*

α) *Problem und Technik.*

Durch homo- und heteroplastische Transplantationen sollte das Verhalten der Ovarien in den verschiedenen Milieus festgestellt werden. Es war abzuklären, ob sich Ovarien, die in einem Milieu keine Eier hervorbringen, in anderer Umgebung entwickeln können, und umgekehrt. Diese Resultate hatten in erster Linie als Grundlage für chromatographische Auswertung, zur Erhärtung meiner Theorie, zu dienen. Zugleich aber liess sich die Kardinalfrage abklären, ob bei Nichtentwicklung eines Ovars die Schuld am Ovar selbst, oder am Milieu liegt; mit andern Worten, ob Autogenie und Anautogenie auf Organ- oder Artspezifität beruhen.

Die freipräparierten Ovarien wurden, nach der von Ephrussi and Beadle (1936) eingeführten Technik, in die Leibeshöhle der adulten Weibchen implantiert. Diese, mit Aether narkotisierten Tiere, wurden, Bauchseite nach oben, auf ein Wachsbett gelegt. Um die Mikropipette rasch und ruhig einführen zu können, hielt eine Nadel die Mücken in der gewünschten Lage fest. Nach der Operation kamen die Tiere in ein kleines Zuchtglas, das mit stark feuchter Watte ausgekleidet war. Die anfänglich hohe Sterberate ging zur Hauptsache auf zwei Faktoren zurück. Einmal war auf peinlichste Sterilität sämtlicher Instrumente zu achten. Die Ovarien der jungen Stadien sind, relativ zur Körpermasse, sehr gross. Die Kapillaren müssen entsprechend dick ausgezogen werden, was beim Einstich eine grössere Wunde hinterlässt. Die Infektionsgefahr wird

dadurch erhöht. Ferner ist das Verbringen der operierten Tiere, in eine stark feuchte Umgebung, von eminenter Wichtigkeit. Bei sämtlichen Transplantationen verblieben die implantierten weiblichen Gonaden während vier Tagen im Wirt.

Die Mückenweibchen, die ein zusätzliches Ovar erhalten hatten, wurden chromatographisch nach der, eingangs bei der Stoffinventarbestimmung beschriebenen Methode, untersucht.

β) *Ergebnisse.*

Für die erklärenden Schemata gelten die in Abbildung 5 angegebenen Signaturen:

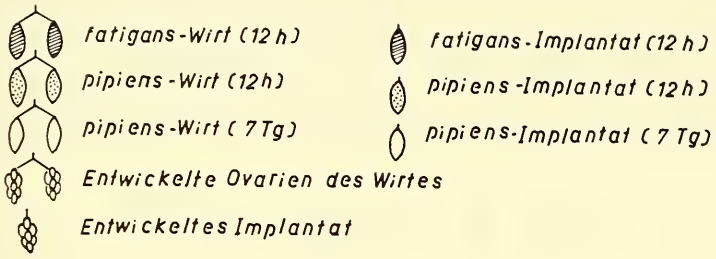

Abb. 5.
Signaturen zu den Schemata.

Homoplastische Transplantationen:

1. Der erste Versuch bestätigte meine Vermutung, dass auch ein zusätzliches *fatigans*-Ovar, sich ohne Blutmahlzeit nicht entwickelt, oder die Wirtsgonade zur Entwicklung anregt (Abb. 6).

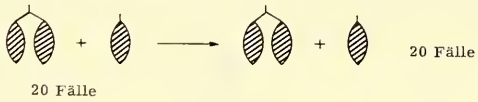

Abb. 6.
Fatigans-Ovar in *fatigans*-Wirt.

2. Der entsprechende Versuch wurde auch bei *Culex pipiens* durchgeführt. Ich implantierte in Weibchen, nach der ersten Eiablage, ein gleichaltriges Ovar (Abb. 7). Das erwartete Resultat war: keine Entwicklung bei Wirts- und Spenderovar. Die hohen Verluste sind leicht zu verstehen. *Pipiens*-Weibchen leben ungefüttert durchschnittlich 14 Tage. Bei der Transplantation war das

Wirtsweibchen bereits 7 Tage alt. Bei der Feststellung der Ergebnisse dieser Transplantationen, d. h. am vierten Tag nach der

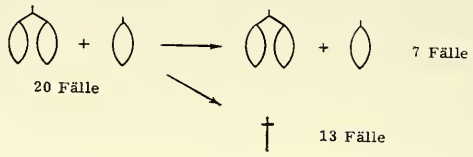

Abb. 7.
Pipiens-Ovar (7 Tg) in *pipiens*-Wirt (7 Tg).

Operation, war die Vitalität des Tieres, wie aus der Lebensdauer zu erwarten ist, stark herabgesetzt. Ausserdem sind die Tiere in diesem Alter, gegenüber operativen Eingriffen, längst nicht mehr so widerstandsfähig, wie kurz nach dem Schlüpfen.

3. Im dritten Versuch erhielten die 12 Stunden alten *pipiens*-Weibchen ein gleichaltriges Ovar als Implantat (Abb. 8). Das im-

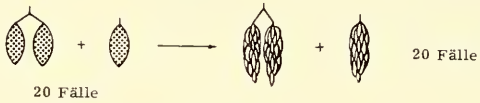

Abb. 8.
Pipiens-Ovar (12 h) in *pipiens*-Wirt (12 h).

plantierte Ovar entwickelt sich im Wirtsmilieu zur Reife. Die Entwicklungsstufe ist nicht überall dieselbe.

4. In diesem Versuch implantierte ich *pipiens*-Ovarien nach der autogenen Eiablage, in 12 Stunden alte Weibchen (Abb. 9). Aus der vorliegenden Versuchsserie ist ersichtlich, dass 9 der 20 im-

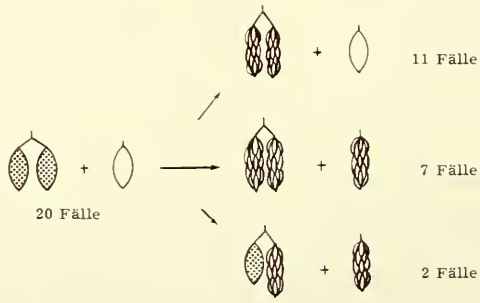

Abb. 9.
Pipiens-Ovar (7 Tg) in *pipiens*-Wirt (12 h).

plantierten Diapause-Ovarien, eindeutig durch den Wirt zur Entwicklung, die dann zu reifen Eiern führte, angeregt wurden. Zwei Weibchen hatten nur eines ihrer beiden Ovarien entwickelt, während das andere im ursprünglichen Zustand verharrte; im implantierten Ovar hingegen, waren ebenfalls reife Eier ausgebildet. Es ist kaum anzunehmen, dass das Implantat die Entwicklung des einen Wirtsovars unterdrückt hat. Diese Abnormität war auch, wenn auch sehr selten, ebenfalls bei unbehandelten Tieren festzustellen. Es dürfte sich eher um eine Störung im betreffenden Ovar selbst handeln. Diese Erklärung trifft wahrscheinlich auch auf die wenigen Fälle der nichtentwickelten Implantate zu.

Heteroplastische Transplantationen:

5. Nach den bisherigen Resultaten drängte sich der Versuch auf, 12 Stunden alte *pipiens*-Ovarien in *fatigans*-Weibchen zu transplantieren (Abb. 10). Die Implantate entwickeln sich auch in

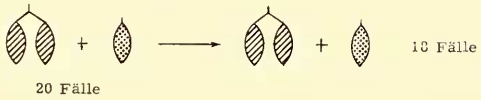

Abb. 10.
Pipiens-Ovar (12 h) in *fatigans*-Wirt (12 h).

anautogener Umgebung n i c h t . Sie bleiben in einem unentwickelten Zustand wie die wirtseigenen Ovarien. Zwei Fälle sind verloren gegangen.

6. Von ganz besonderem Interesse war das letzte Experiment, in welchem *fatigans*-Ovarien in 12 Stunden alte *pipiens*-Weibchen implantiert wurden (Abb. 11). Die Spenderovarien entwickeln sich in diesem Wirt zu 75%.

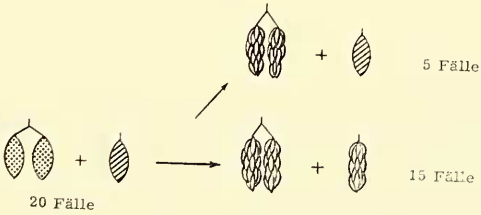

Abb. 11.
Fatigans-Ovar (12 h) in *pipiens*-Wirt (12 h).

Von den verschiedenen Transplantationsexperimenten wählte ich zwei für die chromatographische Auswertung aus. Die Wahl fiel auf Experiment 1: *fatigans*-Ovar in *fatigans*-Weibchen, als Beispiel für die Nichtentwicklung der Implantate und auf Experiment 3: 12 Stunden altes *pipiens*-Ovar in gleichaltrige *pipiens*-Weibchen, als Gegenbeispiel. In diesen beiden Fällen nämlich war das Verhalten der Implantate je 100%ig einheitlich, während in den übrigen Transplantationen stets ein grösserer Prozentsatz unentwickelt blieb, was den Tieren äusserlich nicht anzusehen war. Diese Versuchsserien eigneten sich für exakte chromatographische Bestimmungen natürlich weit weniger. Tabelle 8 zeigt die Unterschiede im Gehalt an Methioninsulfoxyd zwischen Kontrollen und Versuchen. Die Substanz unterscheidet sich in den *fatigans*-Versuchen quantitativ kaum von den Kontrollen, während sie in den *pipiens*-Experimenten in bedeutend grössern Mengen vorhanden ist. Die Unterschiede sind statistisch gesichert.

Tabelle 8.

Verhalten von Methioninsulfoxyd (in Extinktionseinheiten des Beckman-Photospektrometers) nach Implantation eines arteigenen, gleichaltrigen Ovars in je 12 Culex fatigans- *und* Culex pipiens-*Weibchen, vier Tage später bei 22° C.*

Culex fatigans			*Culex pipiens*		
n	Kontrolle	Versuch	n	Kontrolle	Versuch
7	0,223 ± 0,009	0,237 ± 0,007	7	0,385 ± 0,008	0,443 ± 0,006

2. Diskussion.

Das *fatigans*-Milieu, ohne Blutmahlzeit, ist nicht in der Lage, weder die eigenen (A_1), noch die jungen (A_2) oder alten (A_3) *pipiens*-Ovarien, zur Entwicklung anzuregen (Abb. 12). Hingegen zeichnet sich der *pipiens*-Wirt als geeignetes Milieu für die Entwicklung aller drei Ovarientypen, aus. Die anautogenen *fatigans*-Ovarien sind in autogenen Mückenweibchen durchaus entwicklungsfähig (B_1). Gleichfalls bringt das *pipiens*-Milieu die eigenen jungen (B_2) und

alten (B_3) Ovarien zur Entwicklung. Diese Ergebnisse stimmen in jeder Hinsicht mit jenen von LARSEN and BODENSTEIN (1959)

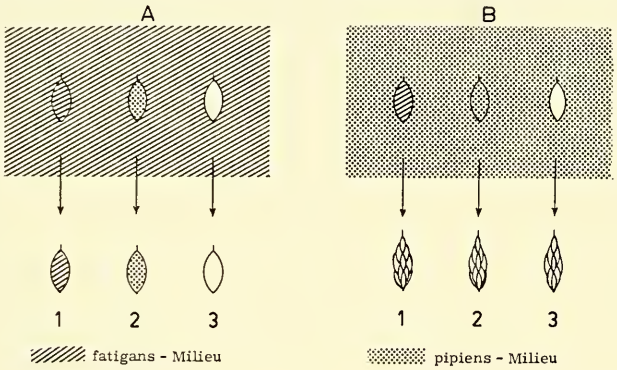

ABB. 12.
Zusammenstellung der Ovartransplantationen bei *Culex pipiens* und *Culex fatigans*-Weibchen.

überein, die ihre Versuche an *Culex molestus* (autogen), *Culex pipiens* (anautogen) und *Aedes aegypti* (anautogen) durchgeführt haben. Angeregt durch frühere Arbeiten BODENSTEINS (1945, 1947), suchten die beiden Autoren in erster Linie nach dem, die Ovarentwicklung auslösenden Faktor. Nach überzeugenden Experimenten kamen sie zu den folgenden, in Abbildung 13 dargestellten Ergebnissen:

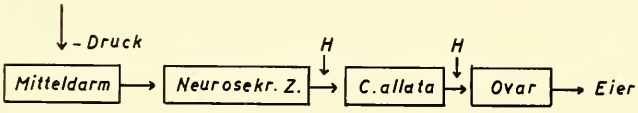

ABB. 13.
Hormonale Wirkung (H) auf die Eireifung.

Die Auslösung ist ähnlich wie bei *Rhodnius* (WIGGLESWORTH 1936). Der Druck verdauten Blutes auf den Mitteldarm, während ca. 30 Minuten, wirkt auf die neurosekretorischen Zellen im Gehirn. Diese scheiden ein Hormon aus, das die Corpora allata aktiviert, die ihrerseits ein Hormon ausschütten. Nach den ersten 60 Minuten wird die Stimulation durch die neurosekretorischen Zellen über-

flüssig; die Corpora allata produzieren nun unabhängig ihr Hormon. Der Titer an Corpora allata-Hormon ist nach 180 Minuten so gross, dass keine weitere Hormonproduktion mehr nötig ist. Damit sich das Ovar bis zur Reife entwickelt, muss es 50 Stunden in diesem

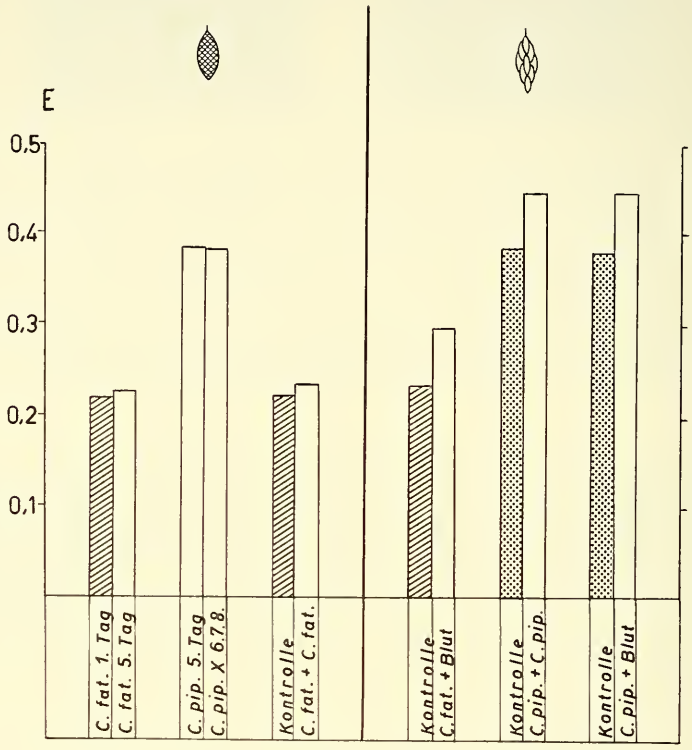

Abb. 14.
Beziehung zwischen Ovarentwicklung und Methioninsulfoxyd-Menge (in Extinktionseinheiten des Beckmanphotospektrometers E).
//// *C. fatigans* · · · · *C. pipiens*

Hormon-Milieu bleiben. Frühere Arbeiten von Detinova (1945), Clements (1956) und Gillett (1958) deuten ebenfalls darauf hin, dass die Reifung der Eier in Mücken-Ovarien, durch das gonadotrope Hormon in den Corpora allata, angeregt wird.

Die chromatographischen Ergebnisse über das Ovar-Methioninsulfoxyd-Problem ergeben folgendes Bild (Abb. 14): In der linken Hälfte der Darstellung sind Kontrollen und zugehörige Versuche

quantitativ gleichwertig. In allen diesen Fällen zeigt eine Sektion die Ovarien unentwickelt. Die rechte Hälfte, hingegen, weist gesicherte Unterschiede zwischen Kontrollen und Versuch auf. Die Ovarien sind entwickelt. Es besteht eine Korrelation zwischen Ovarentwicklung und Methioninsulfoxyd-Menge. Ein sich entwickelndes Ovar ruft eine Anreicherung an Methioninsulfoxyd hervor, was zu beweisen war. Das Methioninsulfoxyd wird nicht im Ovar selbst angereichert. In 24 Ovarien, die aus 4-tägigen *pipiens*-Weibchen herauspräpariert wurden, konnten Asparaginsäure, Glutaminsäure und α-Alanin in bedeutenden Mengen nachgewiesen werden. Diese Aminosäuren stammen also aus den Eiern. Hingegen war Methioninsulfoxyd nicht nachweisbar. Chen (1957) hat ausserdem gezeigt, dass in der Kopf-Thorax-Region grössere Mengen an Methioninsulfoxyd zu finden sind, als im Abdomen, dem Sitz der Fortpflanzungsorgane. Es hat den Anschein, als ob das Ovar während der Entwicklung allgemein den Stoffwechsel der schwefelhaltigen Aminosäuren aktiviert, wobei als Endprodukt Methioninsulfoxyd gebildet wird. Nach Fruton and Simmond (1953) kann Methioninsulfoxyd als solches Endprodukt vorkommen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG.

1. Das Stoffinventar an freien Aminosäuren und Peptiden in der Adultentwicklung von *Culex fatigans* entspricht demjenigen von *Culex pipiens*. Es wurden folgende ninhydrinpositive Substanzen identifiziert: α-Alanin, β-Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Cystin, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Leucin/Isoleucin, Lysin, Methioninsulfoxyd, Prolin, Serin, Taurin, Threonin, Tyrosin, Valin/Methionin und drei Peptide.

2. Quantitativ bildet Methioninsulfoxyd eine Ausnahme. Bei *pipiens*-Weibchen reichert sich diese Substanz vom ersten bis zum fünften Tag stark an, während bei *fatigans*-Weibchen die Konzentration annähernd gleich bleibt. β-Alanin ist auch bei *Culex fatigans* in den Männchen in weit grössern Mengen vorhanden, als bei den Weibchen, was Chen (1958 *a*) schon bei *Culex pipiens* festgestellt hat.

3. Es wurden β-Alanin, Methioninsulfoxyd, Histidin und Valin-Leucin einzeln, sowie Gemische aus Arginin, Isoleucin, Leucin,

Lysin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan, Valin, resp. allen, in den Mückenweibchen gefundenen Aminosäuren (siehe Stoffinventar oben), an Larven und Adulttiere verfüttert. Unter den vorliegenden Versuchsbedingungen zeigen diese Aminosäuren keinen Einfluss auf die Ovarentwicklung. Die Eireifung wird auch nicht durch Fütterung der Larven mit Blut beeinflusst. Nach Verabreichung von Aminosäuren waren keine histologischen Veränderungen in Ovarien der Adulttiere festzustellen.

4. Durch homo- und heteroplastische Transplantationen der Ovarien in adulte Mückenweibchen ergaben sich folgende Ergebnisse:

a) Die Unfähigkeit, ohne Blutnahrung reife Eier zu bilden, liegt bei *fatigans*-Weibchen nicht am Ovar, sondern am Milieu. Die anautogenen *fatigans*-Ovarien, nach Transplantation in ein junges, autogenes Weibchen, liefern reife Eier, was umgekehrt nicht zutrifft. Dieses Ergebnis stimmt mit den bisherigen Befunden anderer Autoren überein, wonach die Eireifung bei der autogenen Form durch die hormonale Tätigkeit der Corpora allata, angeregt wird.

b) Es besteht eine Relation zwischen Ovarentwicklung und Methioninsulfoxyd. Ein sich entwickelndes Ovar bedingt eine Anreicherung an Methioninsulfoxyd, das als Endprodukt des Stoffwechsels von schwefelhaltigen Aminosäuren aufgefasst werden muss.

RÉSUMÉ.

1. Les acides aminés libres et les peptides décelés au moment de l'éclosion des adultes de *Culex fatigans* correspondent à ceux de *Culex pipiens*. L'auteur énumère les substances ninhydrine-positives identifiées.

2. Chez les femelles de *pipiens* la teneur en méthionine-sulfoxyde s'enrichit fortement du premier au cinquième jour de l'éclosion, tandis que chez les femelles *fatigans* la concentration se maintient sensiblement stable. La β-alanine chez les mâles de *Culex fatigans* est beaucoup plus abondante que chez les femelles, ce que Chen (1958 *a*) a déjà observé chez *Culex pipiens*.

3. Les expériences d'alimentation avec les substances énumérées ont montré que dans les conditions observées ces acides aminés

n'ont aucune influence sur le développement ovarien. La maturation des œufs n'est pas influencée non plus par l'alimentation des larves au sang. L'administration d'acides aminés ne provoque aucune modification histologique décelable dans les ovaires de l'adulte.

4. Les greffes d'ovaires homoplastiques et hétéroplastiques chez les femelles adultes ont montré:

a) que l'incapacité des femelles *fatigans* de mûrir leurs œufs sans absorber du sang ne réside pas dans l'ovaire mais dans le milieu. Les ovaires anautogènes de *fatigans* transplantés chez les jeunes femelles autogènes *pipiens*, produisent des œufs mûrs, ce qui n'est pas le cas dans les greffes contraires. Ce résultat confirme que la maturation des œufs chez les formes autogènes est stimulée par l'activité hormonale des Corpora allata.

b) qu'il existe une relation entre le développement et le méthionine-sulfoxyde. L'ovaire en se développant produit une augmentation de la teneur de cette substance qui doit être considérée comme un produit final du métabolisme des acides aminés sulfurés.

SUMMARY.

1. Using paper chromatography it was found that during adult development the pattern of free amino acids and peptides in *Culex fatigans* corresponds to that in *Culex pipiens*. The following ninhydrin-positive substances have been identified: α-alanine, β- alanine, arginine, aspartic acid, cystine, glutamine, glutamic acid, glycine, histidine, leucine/isoleucine, lysine, methionine sulphoxide, proline, serine, taurine, threonine, tyrosine, valine/methionine and three peptides.

2. From the quantitative point of view methionine sulphoxide is an exception. In *pipiens* females the concentration of this substance increases rapidly from the first to the fifth day after hatching, whereas in *fatigans* females its content remains more or less the same during the same period. In agreement with the previous work of Chen (1958 *a*) on *Culex pipiens* β-alanine occurs also in a distinctly higher quantity in *fatigans* males as in females.

3. Larvae and adults were fed with either β-alanine, methionine sulphoxide, histidine and valine/leucine individually, or mixtures

of arginine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine, or all the amino acids listed above. Under the present experimental conditions these substances showed no influence on the development of the ovary. The ripening of the eggs was not affected by feeding the larvae with blood. Also no histological changes could be observed after giving these amino acids.

4. By homo- and heteroplastic transplantations of ovaries in adult female mosquitoes the following results have been found:

a) The failure of forming mature eggs in *fatigans* females without blood meals is not due to the ovary, but the internal medium. The anautogenuous *fatigans* ovaries, after being transplantated into a young autogenuous *pipiens* female, produced ripe eggs. The opposite however was not true. This result is in agreement with the findings of previous authors, according to which the egg maturation in the autogenuous form is stimulated by the hormone activity of corpora allata.

b) There is a positive correlation between the development of ovary and the content of methionine sulphoxide. The ovarian development leads to a gradual accumulation of methionine sulphoxide which must be considered as a metabolic end product of the sulfur-containing amino acids.

VII. LITERATUR

Amanieu, M., G. Duchateau, M. Florkin und C. Jeuniaux. 1956. *Systèmes d'acides aminés non protéiques du plasma de l'hémolymphe au cours de la vie larvaire et nymphale de Bombyx mori.* Arch. int. Physiol. 64: 518-519.

Auclair, J. C. and R. Dubreuil. 1952. *A simple ultramicromethod for the quantitative estimation of aminoacids by paper partion chromatography.* Canad. J. Zool. 30: 109-113.

Baldwin, E. 1957. *Biochemie. Einführung in ihre Dynamik.* Verlag Chemie. Weinheim. S. 167.

Ball, G. H. and E. W. Clark. 1953. *Species differences in aminoacids of Culex mosquitoes.* System. Zool. 2: 138-141.

Benz, G. 1957. *Untersuchungen über die Wirkung der Letalfaktoren letal-bluter (lbl) und letal-polymorph (lpm) von Drosophila melanogaster.* Z. indukt. Abstamm.- und VererbLehre 88: 78-114.

BODENSTEIN, D. 1945. *The Corpora allata of mosquitoes.* Bull. Conn. agric. Exp. Sta. 488: 396-405.

— 1947. *Investigations on the reproductive system of Drosophila.* J. Exp. Zool. 104: 101-152.

BOISSEZON, P. DE. 1933. *De l'utilisation des protéines et du fer d'origine végétale dans la maturation des œufs chez Culex pipiens.* L.C.R. Soc. Biol., Paris. 114: 487-489.

BUCK, A. DE. 1935. *Beitrag zur Rassenfrage bei Culex pipiens.* Z. angew. Ent. 22: 242-252.

CHEN, P. S. 1958 *a. Studies on the protein metabolism of Culex pipiens L. I. Metabolic changes of free amino acids during larval and pupal development.* J. Ins. Physiol. 2: 38-51.

— 1958 *b. Studies on the protein metabolism of Culex pipiens L. II. Quantitative differehces in free amino-acids between male and female adult mosquitoes.* J. Ins. Physiol. 2: 128-136.

— 1959. *Studies on the protein metabolism of Culex pipiens L. III. A comparative analysis of the protein contents in the larval haemolymph of autogenous and anautogenous forms.* J. Ins. Physiol. 3: 335-344.

— und E. HADORN. 1954. *Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Haemolymphe von Drosophila, Ephestia und Corethra.* Rev. suisse Zool. 61: 437-451.

— — 1955. *Zur Stoffwechselphysiologie der Mutante letal meander (lme) von Drosophila melanogaster.* Rev. suisse Zool. 62: 338-347.

— und A. KÜHN. 1956. *Vergleichende Untersuchung der freien Aminosäuren und Peptide während der Raupen- und Puppenentwicklung verschiedener Genotypen von Ephestia kühniella.* Z. Naturf. 11 *b*: 305-314.

— und C. DIEM. 1961. *Ninhydrin-positive substance found in the paragonia of adult males of Drosophila melanogaster.* D.I.S. No. 35. 1961.

CLARK, E. W. 1952. *The free amino acids in the whole bodies of culicid mosquitoes.* Exper. Parasit. 1: 339-346.

— and G. W. BALL. 1951. *The free amino acids in the whole bodies of culicid mosquitoes.* J. Parasit. 37: 29.

CLEMENTS, A. N. 1956. *Hormonal control of ovary development in mosquitoes.* J. exp. Biol. 33: 211-233.

DETINOVA, T. S. 1945. *On the influence of glands of internal secretion upon the ripening of the gonads and the imaginal diapause of Anopheles maculipennis.* Zool. Zh. 34: 291-298.

DIEM, C. 1961. *Papierchromatographische Untersuchungen über den Paragonienstoff der männlichen Imagines von Drosophila melanogaster.* (Unveröffentlicht).

Dimond, J. B., A. O. Lea, W. F. Hahnert und D. M. Delong. 1956. *The amino acids required for egg production in Aedes aegypti.* Canad. Ent. 88: 57-62.

Drilhon, A. 1952. *Etude du milieu intérieur de Macrothylacea rubi L. au cours de la diapause.* C. R. Acad. Sci. Paris. 234:1913-1915.

Ephrussi, B. and G. W. Beadle. 1936. *A technique of transplantation for Drosophila.* Amer. Naturalist. 70: 218-225.

Faulhaber, I. 1959. *Biochemische Untersuchungen zum Eiweiss-Stoffwechsel der Letalmutante Lethal Giant Larvae (lgl) von Drosophila melanogaster.* Z. VererbLehre. 90: 299-334.

Fischer, F. G. und H. Dörfel. 1953. *Zur quantitativen Auswertung der Papierchromatogramme von Eiweiss-Hydrolysaten.* Bioch. Zeitschr. 324: 544-566.

Fox, A. S. 1956 *a. Chromatographic differences between males and females in Drosophila melanogaster and role of x and y chromosomes.* Physiol. Zoölogy. 24: 288-298.

— 1956 *b. Paper chromatographic studies of the effects of the lozenge pseudoalleles on free amino acids and peptides in Drosophila melanogaster.* Z. indukt. Abstamm.- und Vererb-Lehre. 87: 554-566.

— C. G. Mead and I. L. Munyon. 1959. *Sex Peptide of Drosophila melanogaster.* Science. 129: 1489-1490.

Fruton, J. S. and S. Simmonds. 1953. *General Biochemistry.* John Wiley and Sons, Inc. New York. 795.

Gaschen, H. 1932. *Influence de la température et de la nutrition larvaire sur le développement de Culex pipiens (race autogène).* Bull. Soc. Pat. exot. 25: 577-581.

Gillett, J. D. 1958. *Variation in the time of release of the ovarian development hormone in Aedes aegypti.* Nature. London. 180: 656-657.

Goldberg, L. and B. de Meillon. 1947. *Further observations on the nutritional requirements of the larvae of Aedes aegypti L.* Nature. 160: 582-583.

Greenberg, J. 1951. *Some nutritional requirements of adult mosquitoes (Aedes aegypti) for oviposition.* J. Nutr. 43: 27-35.

Hackman, R. H. 1956. *Changes in free amino acids of the blood of blowfly larvae at metamorphosis.* Aust. J. Sci. Res. B 9: 400-405.

Hadorn, E. and H. K. Mitchell. 1951. *Properties of mutants of Drosophila melanogaster and changes during development as revealed by paper chromatography.* Proc. nat. Acad. Sci. Wash. 37: 650-665.

— und E. Stumm-Zollinger. 1953. *Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutante « letaltranslucida » (ltr) von Drosophila melanogaster.* Rev. suisse Zool. 60: 506-516.